

Olga Zaikovska

NAGA FUNKCIONĀLĀS
VIENĪBAS PĀRMAIŅAS
ONIHOMIKOZES PACIENTIEM

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – morfoloģija

Darba zinātniskie vadītāji:
Dr. med., Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**
Dr. med. asociētais profesors **Jānis Ķīsis**

Rīga, 2015

SATURS

ANOTĀCIJA.....	4
ABSTRACT	5
DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	6
IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	11
1.1. Onihomikoze.....	11
1.2. Onihomikozes izplatība pasaulē un Latvijā	12
1.3. Naga anatomija un histoloģija	13
1.4. Onihomikozes izraisītāji, patofizioloģija un formas.....	17
1.5. Onihomikozes klīniskā smaguma indekss	20
1.6. Onihomikozes diagnostika.....	24
1.7. Naga biopsija	26
1.8. Audu iekaisuma un remodelācijas marķieri.....	29
1.8.1. Interleikīni	29
1.8.2. Matrices metaloproteināze-2	30
1.8.3. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors	31
1.8.4. Neuropeptīdus saturošās inervācijas marķieris PGP9,5.....	31
1.8.5. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze.....	32
1.9. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas	33
2. MATERIĀLS UN METODES.....	37
2.1. Pētāmais materiāls	37
2.1.1. Pētāmie audi	37
2.1.2. Onihomikozes pacienti.....	38
2.1.3. Kontroles materiāls	40
2.2. Morfoloģiskās metodes.....	41
2.2.1. Audu fiksācija un rutīnās krāsošanas metodes.....	41
2.2.2. Periodiskas skābes <i>Shiff</i> reakcija.....	42
2.2.3. Biotīna streptavidīna imūnhistoķīmijas metode un reaktīvi	42
2.2.4. TUNEL metode	44
2.3. Datu apstrādes metodes	45
2.3.1. Puskvantitatīvā metode	45
2.3.2. Statistiskās datu apstrādes metodes.....	45
3. REZULTĀTI	48
3.1. Klīnisko datu raksturojums.....	48
3.2. Morfoloģijas dati.....	50
3.2.1. Rutīnas histoloģijas dati	50
3.2.2. Periodiskas skābes <i>Shiff</i> reakcijas dati	52
3.3. Audu iekaisuma un remodelācijas marķieru dati.....	53
3.3.1. Interleikīns-1	54
3.3.2. Interleikīns-6	55
3.3.3. Interleikīns-10	56
3.3.4. Matrices metaloproteināze-2	57
3.3.5. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors	58
3.3.6. Neuropeptīdus saturošās inervācijas marķieris PGP9,5.....	58
3.3.7. Apoptoze	60
3.4. Dati par antimikrobiem peptīdiem	62
3.4.1. Defensīns-2	63
3.4.2. Defensīns-3	64
3.4.3. Defensīns-4	65
3.5. Datu statistiskās korelācijas	66

4. DISKUSIJA.....	67
5. SECINĀJUMI	79
PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU.....	81
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	83
PATEICĪBAS	92
PIELIKUMI.....	93

ANOTĀCIJA

Onihomikozes problēma dermatoloģijā joprojām ir ļoti aktuāla. Jauno medikamentu nav daudz, terapija ir ilgstoša un saistīta ar lielām izmaksām. Terapijas iznākums ir individuāls, bieži novēro recidīvus, tāpēc nepieciešama padziļināta izpratne par procesiem, kas norit nagos. Naga funkcionālā vienība ir interesants, bet sarežģīts izpētes materiāls. Iespējams, ka tāpēc nav rodami raksti par morfoloģiskām pārmaiņām cilvēku nagos sēnīšu infekcijas gadījumā.

Šī darba mērķis bija izpētīt naga funkcionālo vienību onihomikozes gadījumā, vērtējot iekaisuma, vaskularizācijas, inervācijas, deģenerācijas, apoptozes, kā arī dabīgās antimikrobās aizsardzības norises.

Lai realizētu šos darba uzdevumus, 30 onihomikozes pacientiem tika paņemtas 5 mm lielas naga biopsijas. Iegūto materiālu apstrādāja un veica standarta histoloģiskos krāsojumus: ar hematoksilīnu / eozīnu un periodisko skābes *Schiff* reakciju, kā arī dažādu faktoru imūnhistoķīmiskās reakcijas, izmantojot biotīna–streptavidīna metodi. Papildus tika lietota TUNEL metode apoptozes noteikšanai. Kontrolei tika izmantoti piecu līķu nagi. Nokrāsotie preparāti tika analizēti, lietojot gaismas mikroskopijas tehniku. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā daudzuma apzīmēšanai tika lietota puskvantitatīvās skaitīšanas metode. Statistiskai apstrādei tika izvēlētas neparametriskās statistikas metodes. Pēc rangu skalas lielumiem tika aprēķināts Spīrmena korelācijas koeficients un Kendela (*Kendall*) tau-b tests. Kvalitatīvā saistība tika novērtēta kā vāja, vidēja vai cieša.

Rezultāti atklāja, ka onihomikozes skartos nagos ir izteikti pārragošanās traucējumi un sēnīšu elementi, turklāt pārskata izmeklējuma un PAS (periodiska skābes *Schiff* reakcija) kombinācija izrādījās precīza metode sēnīšu infekcijas apstiprināšanai. Imūnhistoķīmiskie krāsojumi deva inovatīvu informāciju par neizmainītu inervācijas līmeni un pastiprinātu vaskuloģenēzes procesu norisi, intensīvu IL-6 un IL-10 citokīnu un antimikrobo peptīdu hBD-2 izdali onihomikozes skartos nagos, kā arī par nozīmīgu audu restrukturizāciju un šūnu apoptozi šīs infekcijas gadījumā.

CHANGES IN FUNCTIONAL UNIT OF THE NAIL OF PATIENTS WITH ONYCHOMYCOSIS

ABSTRACT

The problem of onychomycosis remains topical in dermatology. There are not so many new medicines, therapy is lengthy and related to high costs. Effectiveness of therapy is individual, often cases of recrudescence can be observed. These aspects require an in-depth knowledge of processes in the nails. Functional unit of the nail is an interesting, however, complicated material for research. Possibly that is the reason why written resources cannot be found on morphological changes in the nails in cases of fungal infections.

The goal of the present paper was to study functional unit of the nail in case of onychomycosis, assessing processes of inflammation, vascularization, innervation, degeneration, apoptosis, as well as natural anti-microbial resistance processes.

To fulfil the goal, 5 mm nail biopsy samples were taken from 30 patients with onychomycosis. The obtained specimens were processed and such standard histological stainings as hematoxylin / eosin and periodic acid-Schiff reactions were performed along with immunohistochemical reactions applying biotin-streptavidin method; in addition, TUNEL method was applied to determine apoptosis. For control, nails of five corpses were used. Stained specimens were analysed using equipment of light microscopy. Semi-quantitative counting method was applied to denote the relative amount of structures determined immunohistochemically. Nonparametric statistical methods were applied to statistical processing. Spearman's correlation coefficient and Kendall tau-b test were calculated using rank values. Qualitative relation was assessed as poor, average or close.

Results revealed explicit disorders of keratinization and fungal elements in the nails affected by onychomycosis, moreover, combination of revisory examination and PAS proved itself as a precise method to confirm a fungal infection. Immunohistochemical stainings provided innovative information on an unchanged innervation level and intensified vasculogenesis processes, intensive excretion of IL-6 and IL-10 cytokines and antimicrobial peptides hBD-2, as well as significant restructuring of tissues and apoptosis of cells in the nails affected by onychomycosis.

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Saīsinājums	Nosaukums angļu valodā	Tulkojums latviešu valodā
AI	Apoptotic index	Apoptozes indekss
AIF	Apoptosis inducing factor	Apoptozi inducējošais faktors
AMP	Antimicrobial peptides	Antimikrobie peptīdi
DNS	Deoxyribonucleic acid	Dezoksiribonukleīnskābe
FasL	Fas ligand	<i>Fas</i> ligands
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	Granulocītu–makrofāgu koloniju stimulējošais faktors
H/E	Hematoxylin and eosin	Hematoksilīns un eozīns
hBD-2	Human beta defensin-2	Cilvēka beta defensīns-2
hBD-3	Human beta defensin-3	Cilvēka beta defensīns-3
hBD-4	Human beta defensin-4	Cilvēka beta defensīns-4
IFN	Interferon	Interferons
IL-1	Interleukin-1	Interleikīns-1
IL-2	Interleukin-2	Interleikīns-2
IL-3	Interleukin-3	Interleikīns-3
IL-6	Interleukin-6	Interleikīns-6
IL-8	Interleukin-8	Interleikīns-8
IL-10	Interleukin-10	Interleikīns-10
IL-22	Interleukin-22	Interleikīns-22
KOH	KOH test	Kālija hidroksīda tests
MMP-2	Matrix metalloproteinase-2	Matrices metaloproteināze-2
PAMPs	Pathogen associated molecular pattern	Ar mikrobiem saistīto molekulu veids
PAS	Periodic acid-Schiff	Periodiska skābes <i>Schiff</i> reakcija
PCR	Polymerase chain reaction	Polimerāzes ķēdes reakcija
PGP9,5	Protein gene product 9.5	Proteīna gēna produkts 9,5
SCIO	Scoring clinical index for onychomycosis	Onihomikozes klīniskā novērtējuma indekss
TLRs	Toll Like Receptors	<i>Toll</i> līdzīgie receptori
TGF	Transforming growth factor	Transformējošais augšanas faktors
T _h	T helpers	T līdzētājšūnas
TNF	Tumor Necrosis Factor	Audzēju nekrozes faktors
TNF-R	Tumor Necrosis Factor Receptor	Audzēju nekrozes faktora receptors
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling	Deoksinukleotidiltransferāzes mediētās DNS terminālo 3-galu marķēšana ar deoksiridinfosfātu
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

IEVADS

Onihomikoze ir hroniska, grūti ārstējama sēnīšu infekcija, kas rada pakāpenisku naga plātnītes destruktiju. Slimība saistīta ar dažāda rakstura kosmētiskiem un psiholoģiskiem sarežģījumiem, kā arī biežiem recidīviem un ne vienmēr sekmīgo terapiju. Antibiotiku un konservantu laikmetā bojāti nagi ir kļuvuši par diagnostisku un terapeitisku “mīklu”.

Pēdējās desmitgadēs onihomikoze strauji izplatās visā pasaulē [Charif, 1997]. Zinātnieki to skaidro ar faktu, ka mūsdienās lielākoties tiek valkāti slēgti apavi (mitra, silta vide), prevalē tā sauktais rietumnieciskais dzīvesveids.

Pēc pēdējiem datiem Eiropā un Ziemeļamerikā ar onihomikozēm slimo vidēji 4,3% populācijas [Sigurgeirsson, 2013]. Slimība ir lipīga, un tās terapijas procesā ir iesaistīti gan ģimenes ārsti un dermatologi, gan arī pēdu aprūpes speciālisti.

Pētījuma “*Achilles Project*” dati (100 000 cilvēku 16 Eiropas valstīs) liecina, ka onihomikoze ir ļoti izplatīta slimība Eiropā – ar pēdu sēnītēm slimo vidēji 36% populācijas [Katsambas, 2005]. Daudz lielāka izplatība vērojama Krievijā, īpaši atsevišķos ciemos.

Onihomikozi kā ārsta apmeklējuma iemeslu minējuši 22% pacientu, kā dermatologa apmeklējumu – 30% pacientu. 52,5% gadījumu norādīts, ka pēdu ādas un nagu sēnīšu slimība ierobežo pacientu dzīvi. Lielākā daļa pacientu norāda uz nozīmīgu dzīves kvalitātes ierobežojumu, kas galvenokārt ir saistīts ar bailēm par slimības izplatību uz citiem nagiem vai citu cilvēku inficēšanu, kā arī estētisko problēmas aspektu. Līdz šim pētījums “*Achilles Project*” sniedzis plašāko problēmas atspoguļojumu Eiropā.

Kanādā slimība sastopama 6,5% populācijas, lai gan pacientiem ar imūnās sistēmas nomākumu tā ir ievērojami augstāka [Vender, 2006]. Biežākā slimības forma ir distālā laterālā subungvālā onihomikoze.

Atsevišķas valstis norāda konkrētu ierosinātāju spektru, balstoties uz patogēnā materiāla uzsējumu rezultātiem. Latvijā līdz šim nebija veikti liela mēroga pētījumi, kas ietvertu onihomikozes izplatību vai ierosinātāju spektra iedalījumu.

Igaunijas dati liecina, ka tikai 69% pacientu ar klīniski noteiktu onihomikozi diagnoze tiek apstiprināta arī mikoloģiski. Vienam pacientam atrod vidēji 5,4 onihomikozes skartus nagus. Kā onihomikozes galvenie simptomi tiek minēti: naga krāsas maiņa, hiperkeratoze un naga trauslums. Biežākais slimības ierosinātājs ir *Trichophyton rubrum* [Järv, 2004].

Pēdu onihomikoze ir sastopama septiņas reizes biežāk nekā roku onihomikoze. Onihomikozes biežums palielinās līdz ar vecumu, kas tiek skaidrots ar naga augšanas ātruma un asins cirkulācijas izmaiņām ekstremitāšu distālās daļās [Szepietowski, 2007]. Onihomikozes attīstību nosaka vairāki predisponējoši faktori. Vācu onihomikozes vadlīnijās kā galvenos faktorus izdala: ģenētisku predispozīciju, angiopātijas, perifēras neiropātijas, ciešu apavu valkāšanu, pēdas deformācijas, atkārtotas traumas, diabēta pēdu (*diabetes mellitus*) un citas metaboliskas izmaiņas [Seebacher, 2007; Nenoff, 2014]. R. Novickis (R. Nowicki) ar līdzautoriem min arī imūnā stāvokļa pavājināšanos un psoriāzi [Faergemann, 2006].

Daudzi ārsti empīriski ārstē onihodistrofijas kā onihomikozi, uzskatot, ka klīniskais novērtējums ir pietiekams, lai noteiktu precīzu diagnozi un ārstēšanas shēmu [Piérard, 2006]. Šāda ārstu rīcība noved pie dārgas un neefektīvas terapijas ar medikamentiem, kas var radīt dažādas blaknes pacientiem, kuru slimībai nav mikotiskas dabas [Wilsman-Theis, 2011].

Ikdienas praksē onihomikozes diagnosticēšanai izmanto mikroskopisko materiāla izmeklējumu (kālija hidroksīda testu) un uzsējumu. Jaunākie dati liecina, ka tieši slimā naga biopsija ir visjutīgākā onihomikozes diagnostikas metode – tās jutība sasniedz 80% [Shenoy, 2008]. Gan audu histoloģija, gan materiāla mikroskopiska izmeklēšana kopā ir jutīgākas par uzsējuma metodi (53%), bet histoloģijas un mikroskopijas kopsumma ir visprecīzākā onihomikozes diagnostika [Karimzadegan-Nia, 2007].

Jāpiebilst, ka *Pub Med* datu bāzē lielā skaitā ir pieejami informācijas avoti par patogēno sēnīšu izplatību dažādos pasaules reģionos, par ierosinātāju spektra iedalījumu un biežākajiem ierosinātājiem. Diemžēl ļoti maz ir rakstu par mūsdienīgiem morfopatogēnēzes pētījumiem, kuros aplūkoti patogēno sēnīšu skarti nagi. Iespējams, tāpēc, ka iegūt paraugus ir relatīvi sarežģītīti (ārsta iemaņas, pacienta piekrišana invazīvai procedūrai). Tomēr tiek piedāvāts veikt naga biopsijas situācijās, kad nevar klīniski atšķirt onihomikotiski izmainītus nagus no citām slimībām, kas skar nagus (psoriāze, *lichen planus*, longitudināla melanonīhija, trahionīhija, audzēji) [Grover, 2005; Hamsa, 2006].

Pēdējos gados zinātnieki ir aktīvi pievērsušies organisma dabīgās pretmikrobu aizsardzības pētījumiem. Aizsardzībai organisms ražo mikrobu patogēniem toksiskas molekulas. Patlaban bioķīmiski ir izolēts vairāk nekā 800 antimikrobo peptīdu (AMP). AMP ir mazi, šķīstoši, pozitīvi lādēti proteīni, kas ir spējīgi nomākt vai nogalināt mikrobus, selektīvi bojājot viņu šūnas membrānu. Cilvēkiem atrod ketelicidīnu un defensīnu saimes antimikrobus peptīdus

[Rodrigues, 2009; Lai, 2010]. Savukārt citi zinātnieki jau ir pētījuši tieši naga vienību no dabīgās iedzimtās imunitātes viedokļa un pierādījuši nagu ekstrakta pretmikrobo iedarbību pret *Candida albicans* [Dorschner, 2004].

Ļoti interesants pētījums tika veikts ar *tinea corporis*, t. i., gludās ādas dermatofītijū. Histoloģiskos griezumos redzēja visas epidermas iesaistīšanos ādas reakcijā pret dermatofītiem, kas izpaudās kā epidermas sabiezēšana uz hiperkeratozes, akantozes rēķina. Dermalās kārpiņu slānī vēroja T šūnu un neitrofilu infiltrāciju. Šajā pētījumā tika pierādīta cilvēka beta defensīnu-2 (hBD-2) klātbūtne dermatofītu skartā ādā, kā arī nozīmīga šī AMP darbība pret *Trichophyton rubrum* [Jensen, 2007].

Būtisks ir fakts: kaut gan uz ādas ir daudz mikroorganismu, nenotiek inficēšanās, jo pastāv epiteliālā aizsardzības sistēma. Keratinocīti producē antimikrobo peptīdus (AMP), kas kontrolē mikrobu augšanu uz ādas virsmas. AMP produkciju regulē endogēnie citokīni (IL-22), kā arī ar mikrobiem saistīto molekulu veids (*pathogen associated molecular pattern* – PAMPs).

Ja ir ģenētiski defekti keratinocītu noteiktā antimikrobo peptīdu produkcijā, palielinās uzņēmība pret ādas baktēriju, sēnīšu un vīrusu izraisītām infekcijām. Par piemēru minama tāda ādas slimība kā atopiskais dermatīts [Schröder, 2010].

Candida albicans invāzijas gadījumā mutes gļotādas epitēlija šūnas sāk ražot lielos daudzumos IL-6, IL-8 TNFalfa, kā arī cilvēka beta defensīnu, tādā veidā cīnoties pret infekcijas izplatīšanos [Bahri, 2010].

Cilvēka beta defensīni (hBD) tika atrasti arī *tinea pedis* pacientiem [Kawai, 2006], *Candida* ezofagīta slimniekiem [Steubesand, 2009], respiratorā epitēlija šūnās kā atbilde pret *Aspergillus fumigatus* infekciju [Alekseeva, 2009], mutes gļotādas epitēlijā kandidozās leukoplakijas gadījumā [Abiko, 2002], kā arī keratinocītos *Malassezia furfur* infekcijas laikā [Donnarumma, 2004].

Var teikt, ka par patogēno sēnīšu skarto naga vienību onihomikozes gadījumā zināms salīdzinoši maz. Izmantojot morfoloģijas un mūsdienīgas imūnhistoķīmijas metodes, ir iespējams dziļāk izpētīt morfopatoģenēzes procesus šīs izplatītās slimības gadījumā.

Šī darba **mērķis** bija izpētīt naga funkcionālo vienību onihomikozes gadījumā, vērtējot iekaisuma, vaskularizācijas, invāzijas, deģenerācijas, apoptozes, kā arī dabīgās antimikrobās aizsardzības norises.

Darba hipotēzes:

1. Onihomikozes skartos nagos notiek cilvēka beta defensīnu izdale.
2. Onihomikozes skartos nagos notiek audu restrukturizācijas procesi, ko raksturo citokīnu izdale un šūnu bojāeja.

Pētījumam tika izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Iegūt naga audu paraugus no onihomikozes pacientiem, kā arī kontroles materiālu, un izpētīt histoloģisku pārskata ainu naga funkcionālajā vienībā.
2. Noteikt interleikīnus -1, -6, -10 un cilvēka beta defensīnus -2, -3, -4 onihomikozes skartos un kontroles naga vienības audos noritošo iekaisuma procesu un lokālās antimikrobās aizsardzības raksturošanai.
3. Noteikt PGP9,5 un VEGF onihomikozes skartos un kontroles naga vienības audos neuropeptīdus saturošās invāzijas un audu išēmijas analīzei.
4. Noteikt MMP-2 un apoptozi onihomikozes skartos un kontroles naga vienības audos audu deģenerācijas procesu un programmētās šūnu nāves norises analīzei.
5. Veikt statistisko analīzi un noteikt datu savstarpējo korelāciju.

Darba novitāte

Pirmo reizi tiek veikts onihomikozes skartu un veselu nagu morfoloģijas salīdzinājums izmantojot imūnhistoķīmiskās metodes. Pirmo reizi onihomikozes skartos nagos nosaka antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Onihomikoze

Onychomycosis – (no gr. *onyx* – nags, *mykes* – sēnīte) onihomikoze, patogēno sēņu – dermatofītu un ne-dermatofītu (pelējuma un rauga sēņu) ierosināta hroniska, lipīga roku un / vai kāju nagu slimība, kuras dēļ tiek bojāta naga un naga gultnes struktūra ar vai bez iekaisuma apkārtējos audos [Karls, 2014].

Slimības simptomi attīstās ļoti reti, bieži vien nagi inficējas vairākus mēnešus, pat gadus pēc pēdu mikozes sākuma. Slimību provocējošais mehānisms ir imūnās sistēmas nomākums vai ādas aizsargbarjeras mazināšanās.

Pašizveseļošanās onihomikozei nav raksturīga. Neārstēta sēnīšu infekcija tikai progresē. Interesanti, ka ilgu laiku onihomikoze tika uzskatīta par nenozīmīgu kosmētisku problēmu [Zaias, 1985]. Iespējams, tas bija saistīts ar efektīvu medikamentu trūkumu, kad izplatītākā onihomikozes terapijas metode bija nagu ablācija.

Ādas, matu un nagu sēnīšu infekcijas ir biežākais infekcijas veids cilvēka organismā. Pamatā šī infekcija skar keratinizētos, pārragotos audus. Sēnīšu infekcijas izraisošais mikroorganisms spēj radīt daudz un dažādas izmaiņas cilvēka organismā. Tā kalpo par ieejas vārtiem citām infekcijām, sensibilizē organismu, pasliktina ekzēmas, atopiskā dermatīta un psoriāzes gaitu, kā arī ietekmē šo slimību terapijas rezultātu. Slimība asociējas ar riska grupu pastāvēšanu, dažāda rakstura kosmētiskiem un psiholoģiskiem sarežģījumiem, kā arī biežiem recidīviem un ne vienmēr sekmīgu terapiju [Roberts, 2003].

Sēnīšu izraisīts nagu bojājums var skart vienu, vairākus vai pat visus kāju un roku nagus. Kāju nagu onihomikoze (*onychomycosis pedis*) veido aptuveni 80%, bet roku nagu onihomikoze (*onychomycosis manuum*) – 20% no visām onihomikozēm [Daddah, 2008]. Onihomikoze no visām nagu slimībām (*onychodystrophia*) ir visbiežākā. Vismaz pusi no visiem nagu bojājumiem dermatologa praksē sastāda onihomikozes [Faegermann, 2003].

Abiem dzimumiem patoloģiju konstatē vienlīdz bieži, tomēr sievietes, acīmredzot estētisku apsvērumu dēļ, daudz biežāk vēršas pie speciālistiem pēc palīdzības. Slimo arī bērni, tomēr slimība ir reti sastopama līdz pubertātes vecumam. Nozīmīgākais onihomikozes provocējošais mehānisms ir naga trauma [Cohen, 1992].

1.2. Onihomikozes izplatība pasaulē un Latvijā

Dati par onihomikozes prevalenci dažādās valstīs ir ļoti atšķirīgi. Viens no skaidrojumiem – atšķiras indivīdu atlases process. Kopumā uzskata, ka onihomikoze skar 3–26% iedzīvotāju visā pasaulē [Grover, 2012], vecāki dati liecina par 2–8% [Gupta, 2000]. Pēc pēdējiem datiem onihomikozes vidējā prevalance Eiropā un Ziemeļamerikā ir 4,3–8,9% no populācijas [Sigurgeirsson, 2014]. Pēc publikācijas autoru domām, onihomikoze skar vairāk tieši vīriešus un dermatofīti kopējā ierosinātāju iedalījumā ieņem pirmo vietu (65%). Biežākais ierosinātais ir *Trychophyton rubrum* (44,9%), kā nākamie – raugi (21,1%) un pelējumi (13,3%). Pēc citu autoru domām, ASV ar onihomikozi slimo vismaz 12% iedzīvotāju [Scher, 2013]. Dati par onihomikozes izplatību Kanādā liecina, ka šī slimība ir skārusi 6,48% populācijas [Vender, 2006].

Visjaunākie dati Eiropā ir rodami par Vāciju. Pamatojoties uz pētnieku slēdzienu, var teikt, ka Vācijā onihomikoze skārusi 12,4% populācijas [Nenoff, 2012]. Anglijas dati ir vecāki – 2,71% populācijas [Roberts, 1992], savukārt Somijas dati liecina, ka ar onihomikozi slimo 4,3% sieviešu un līdz 13,0% vīriešu [Heikkilä, 1995].

Lai cik atšķirīgi būtu dati par onihomikozes prevalenci dažādās valstīs, tomēr dati par ierosinātāju spektra iedalījumu ir samērā līdzīgi.

Latvijā iepriekš nebija veikti liela mēroga pētījumi, kas apkopotu lielu uzsējumu skaitu un dotu ticamu atbildi uz jautājumu, kādas sēnītes pašlaik valstī prevalē, tomēr ir pieejami vairāku autoru dati (n = 157–671).

Pēc prof. A. Rubina 1981. gadā publicētajiem datiem (n = 157) var secināt, ka dermatofītu etioloģijas mikoze Latvijā bija **85%** [Rubins, 1981].

2002. gadā asoc. prof. I. Hartmane un asoc. prof. I. Mikažāns apkopoja datus Ādas un seksuāli transmisīvo slimību klīniskajā centrā. Pēc viņu datiem gadā centrā tika diagnosticēti un ārstēti 2004 (18,4% no kopējā dermatožu skaita) pacienti ar ādas sēnīšu slimībām. No tiem laboratoriski apstiprinātas dermatofītu infekcijas bija 1376, bet ādas un ādas derivātu kandidoze – 291. 2003. gadā šo pacientu skaits pieauga līdz 2830 (19,2% no kopējā dermatožu skaita) [Hartmane, 2005].

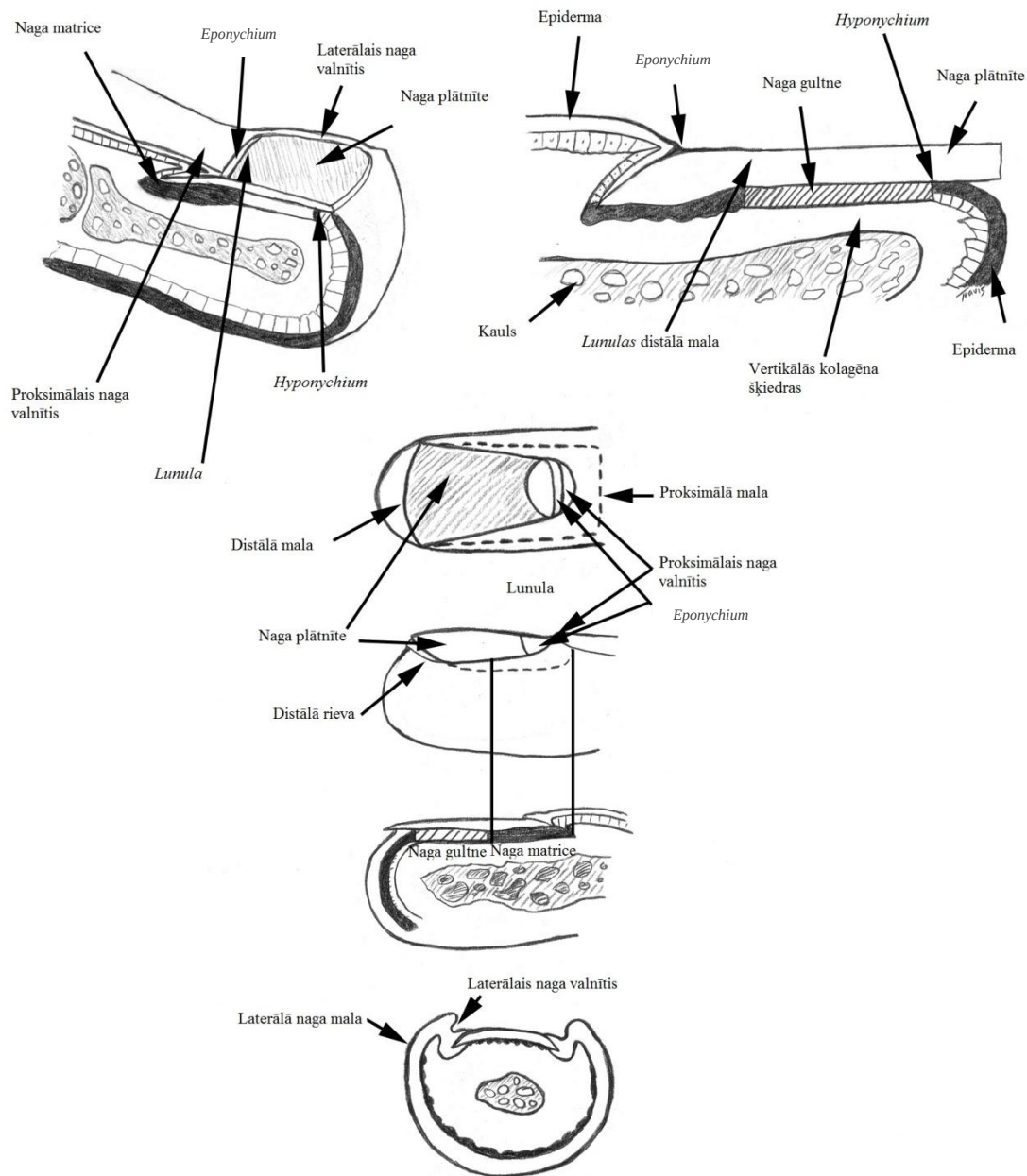
2004. gadā J. Ķīša un kolēģu veiktajā pilotpētījumā dermatofītu etioloģijas mikoze bija **49,8%** (n = 283), bet jaukta infekcija (dermatofīti + *Candida spp.*) – 7,43%. *Candida albicans* kā ierosinātājs bija 35,7% gadījumu, savukārt pelējuma sēnes – 7,06% gadījumu [Ķīsis, 2004].

2004. gadā tika publicēts E. Lavrinovičas veiktais pētījums, kurš ilga trīs gadus. Tajā tika analizēts 671 uzsējums un 520 paraugi apskatīti arī mikroskopiski. No tiem pozitīvi (atrasts micēlijs vai sporas) bija 388. Micēlijs netika atrasts 132 gadījumos. Micēlijs tika atrasts, bet sēnīte neizauga 26 gadījumos. Micēlijs netika atrasts, bet sēnīte izauga 22 uzsējumos (no tiem 7 bija pelējumi, ko nevarētu uzskatīt par infekcijas avotu). No 671 uzsējuma 511 gadījumos patogēnā sēnīte izauga (76%). 160 gadījumos patogēnā sēnīte neizauga (24%). Galvenais onihomikožu izraisītājs bija *Trychophyton rubrum* – **68,6%**. Otro vietu pēc biežuma ieņēma *Candida spp.* – **17%** [Lavrinoviča, 2004].

Prof. J. Ķīsis ar kolēģiem savā pētījumā (n = 283) noskaidroja, ka dermatofīti kā onihomikoze ierosinātāji bija 49,8% gadījumu, bet dermatofīti un *Candida spp.* kā jauktās etioloģijas infekcija tika atrasti 7,43% gadījumu [Ķīsis, 2004]. Šie dati nesaskan ar pētījuma “*Achilles Project*” datiem, jo tajā dermatofīti veidoja daudz lielāku procentuālo daļu – 74%, savukārt jauktā etioloģija – 5%. Vēlāk autoru kolektīvs apkopoja lielāku skaitu (27892) uzsējumu, un pozitīvi uzsējumi ar vienu ierosinātāju tika konstatēti 12 626 (45%) gadījumos, pozitīvie ar jauktu mikrofloru – 2220 (8%), tātad kopā pozitīvie bija 14 846. Negatīvie uzsējumi bija 13 066 (47%). Analizējot pozitīvos uzsējumus, dermatofīti tika atrasti 6703 gadījumos, rauga sēnītes – 4427, pelējuma sēnītes – 1496 gadījumos. Procentuāli dati izskatījās šādi: dermatofīti – 53%, rauga sēnītes – 35%, pelējuma sēnītes – 12%. 1169 gadījumos (8%) uzsējumos tika atrastas jauktās formas.

1.3. Naga anatomija un histoloģija

Naga vienību veido naga plātnīte, gultne un apkārtesošie mīkstie audi, kā arī audi distālā falangā, kas nodrošina apasiņošanu un inervāciju (sk. 1.1. att.).



1.1. attēls. Naga anatomija

Zīmējums adaptēts no: <http://emedicine.medscape.com/article/1948841-overview>

Naga plātnīte ir modificēts *stratum corneum* elements, kas veido lamelāru, keratinizētu aizsargstruktūru virs naga matricē un gultnes daļas. Plātnītes lamelārā struktūra ir redzama, izmeklējot nagu histoloģiski, ultrasonogrāfiski, optiskā koherences tomogrāfijā vai elektronmikroskopijā.

Naga plātnīte ir izliekta gan vertikālā, gan horizontālā plaknē. Šāda uzbūve ļauj naga plātnītei labāk savienoties ar naga valnīšiem proksimāli un laterāli, bet distālā naga plātnītes daļa paliek brīva, kas ļauj to funkcionāli izmantot. Naga plātnītes augšējā virsma ir relatīvi gluda ar variablu “koru” un “vagu” zīmējumu. Interesanti, ka līdz ar vecumu mainās arī šis zīmējums [Apolinar, 1980].

Laterālie naga valnīši veido spilventiņiem līdzīgas struktūras naga laterālās malās. Galvenā naga valnīšu funkcija ir aizsargāt naga plātnīti un zem tās esošās struktūras. Ja laterālie naga valnīši samazinās apjomā, var sākties naga gultnes bojājums, kas izpaužas kā oniholīze. Situācijās, kad veidojas naga valnīša un naga malas neatbilstība, novēro ieaugušus nagus. Parasti tie veidojas pēc traumatizācijas [De Berker, 2013].

Proksimālais valnītis pievienojas pie dorsālās naga plātnītes daļas un pilnīgi vai daļēji zem sevis slēpj matricē daļu, veidojot *lunulu*. Šī rajona trauma var beigties ar paliekošu naga rētošanos. Valnīša daļa sargā atsevišķus matricē esošus melanocītus no ultravioletajiem stariem, tādējādi samazinot iespējamo malignizācijas risku [Stern, 2011].

Proksimālo naga valnīti ar dorsālo naga plātnītes daļu savieno virsnaga plātnīte jeb *eponychium*, kas pasargā nagu no kairinošām vielām un šķīdinātājiem, kas var kairināt matrici un ietekmēt nagu augšanu [Rigopoulos, 2008].

Audi zem plātnītes ir iedalāmi 2 daļās: naga matrice (15–25%) un naga gultne (75–85%). No matricē šūnām veidojas visa naga plātnīte. Ģenētiski noteikta ir naga forma, biezums, struktūra, kā arī naga ataugšanas ātrums. Jo garāka ir matricē daļa, jo biezāki ir nagi. Histoloģiski gan naga matricē, gan naga gultnes daļai nav graudainā slāņa. Bazālais matricē nodalījums ir platāks nekā tas pats reģions normālā epitēlijā vai citā naga vienības daļā. Šūnas diferencējas par “cieto” keratīnu (imūnhistoķīmiski konstatē cieto K 31 keratīnu) un tiek iekļautas naga plātnē. Šim keratīna paveidam piemīt plāksņaina struktūra, un keratinizācijas procesā apaļīgās šūnas pārvēršas cieši cita citai piegulošās zvīņās. Šajā procesā keratinocīti var saglabāt savus kodolus līdz pat distālai plātnītes daļai. Šie saglabātie kodoli tiek saukti par *pertinax* ķermenīšiem. Kopumā naga plātnītes struktūra ir bieza, bet poraina, kas nodrošina labu uzsūkšanos un iztvaikošanu [De Berker, 2013].

Naga gultne (ventrālā matrice, sterilā matrice) sniedzas no lunulas distālās malas līdz *hyponychium* jeb zemnaga plātnītei. Ja veic naga plātnītes avulsiju, tad vēro longitudinālu zīmējumu naga gultnē. Sīkie naga gultnes asinsvadi orientēti tajā pašā virzienā. Klīniski tas manifestējas *Splinter's* hemorāģiju veidā, kad hēms deponējas zem naga plātnītes un virzās uz

priekšu, plātnītei ataugot [Martin, 1959]. Naga gultnes šūnām ir maza proliferācijas spēja, un tajās atrod K 1 un K 10 keratīnu, kas parasti ir arī normālā ādā. Naga gultnes epidermālais slānis parasti sastāv no ne vairāk kā 2–3 šūnu kārtām, pārejas zona no dzīvajiem keratinocītiem uz pārragotām ventrālās naga plātnītes šūnām ir samērā asa, tā veidojas no vienas horizontālas šūnu kārtas (atgādina Henles apvalku mata folikulā) [Martin, 2013].

Oniholīze nagā asociējas ar virkni izmaiņu: graudainā slāņa parādīšanos, terminālās diferenciacijas keratīna attīstību un normālā “koru” zīmējuma izzušanas zem naga plātnītes [Vélez, 2014].

Naga gultnē īpaši attīstīts ir *stratum papillare*. Atšķirībā no ādas dermā nav zemādas tauku slāņa, tomēr mikroskopiski var būt redzamas izsvaidītas dermālo tauku šūnas, nevēro *apparatus pilosebaceus*. Naga gultnes dermālais kolagēns ir lielākoties vertikāli orientēts, tieši piesaistīts falangas periostam un epidermālai bazālai membrānai. Naga dermā atrodas ne tikai saistaudi, bet arī asinsvadi, limfvadi, labs elastīgo šķiedru tīkls. Naga gultnes distālā daļā var būt sviedru dziedzeru izvadi [André, 2013].

Hyponychium jeb zemnaga plātnīte veido pāreju no naga plātnītes uz ādu naga brīvā malā. Klīniski tai ir nozīme drīzāk kā telpai, nevis virsmai. Tieši šī vieta var būt par subungvālās hiperkeratozes fokusu pie tādām slimībām kā *pityriasis rubra pilaris* un *pachyonychia congenita*. *Hyponychium* telpa kalpo par rezervuāru *scabies*, dažādiem mikrobiem un antigēniem. Ķirurģijā zemnaga plātnīte tiek uzskatīta par potenciālu infekcijas avotu [Martin, 2013].

Onihodermālais savienojums ir specifiski tonēts laukums 1–1,5 mm platumā naga gultnes distālā malā. Parasti kaukāziešu rases cilvēkiem šī zona ir sārtā krāsā. Šī krāsa var variēt atkarībā no saspieduma pakāpes vai pie iekšķīgām slimībām [Perrin, 2008].

Arteriālā apgāde pirkstu un roku nagiem lielākoties ir vienāda. Radiālā un ulnārā artērija piegādā asinis dziļai un virspusējai plaukstas arkādei (lokiem), kas ir kā lielākā anastomoze starp diviem asinsvadiem. Zari no šīs arkādes sasniedz katru falangu. Katru pirkstu apgādā četras artērijas, pa divām no katras puses. Dorsālās pirksta artērijas ir mazas un sasniedz radiālās artērijas zarus. Tās veido anastomozes ar virspusējiem un dziļajiem palmārajiem lokiem un palmāriem pirksta asinsvadiem pirms distāli sasniedz pirkstus.

Pēdas pirkstus ar asinīm apgādā *a. tibialis posterior* un *a. dorsalis pedis*, kuras veido *a. arcuata* un *arcus plantaris*, no kuriem atiet dubultzari uz visiem pirkstiem. Asinsvadi savā starpā veido anastomozes.

Pirkstu asinsvadiem piemīt ļoti interesanta īpašība. Tie spēj saliekties 270° leņķī un līdzinās satītai spirālei. Funkcionāli tas pasargā no samezglošanās un oklūzijas.

Venozā attece notiek caur dziļo un virspusējo sistēmu. Dorsālās un palmārās pirkstu vēnas ir samērā virspusēji novietotas.

Naga gultnes asinsvadus veido kapilāru tīkls, ko var apskatīt ar dermatoskopa un gela palīdzību. Tas ir līdzīgs veselas ādas kapilāru tīklojumam, tikai tie novietoti vairāk horizontāli [Baran, 2012].

Naga gultnē atrodas daudz *glomus* ķermenīšu, kas ir arteriovenozās anastomozes. To daudzums naga gultnē uz 1 cm^3 sasniedz 93–501 ķermenīšu. Aukstuma apstākļos šeit notiek pievedošo artēriju un asinsvadu dilatācija. Šo perifērās cirkulācijas regulējošo mehānismu sauc par Masona perifēro sirdi [De Berker, 2013].

Naga vienības mīkstie audi inervāciju saņem no pāra digitālu nervu dorsāliem zariem. Palmārie un plantārie zari pienāk attiecīgi pie palmārās un plantārās virsmas, ieskaitot pirksta pulpu un sānu malas līdz *hyponychium*. To ir svarīgi zināt, veicot anestēziju naga ķirurģiskām manipulācijām. Tas nozīmē, ka nepieciešams atsevišķs proksimāls bloks pie naga gultnes. Vinkelmans (*Winkelmann*) parādīja, ka daudzi nervu gali sasniedz epiteliālo virsmu naga gultnē. Ar to skaidro nespecifisku jušanas zudumu pacientiem pēc naga ķirurģiskām manipulācijām [Readon, 1999].

1.4. Onihomikozes izraisītāji, patofizioloģija un formas

Mūsdienās tiek minētas 50 dažādas sēņu sugas, kas var inficēt naga plātnīti. Visus onihomikozes ierosinātājus ir pieņemts iedalīt trīs grupās: dermatofīti, rauga un pelējuma sēnītes. Visbiežāk nagus bojā tieši dermatofīti, kas veido 50–80% no pozitīvo uzsējumu skaita. Ap 20 dermatofītu sugām ir biežākie infekcijas ierosinātāji, taču visbiežākais – *Trichophyton rubrum*. Nedaudz retāk atrod: *Trichophyton (T.) mentagrophytes* un *Epidermophyton floccosum*. Otrajā vietā aiz dermatofītiem onihomikozes biežuma ierosināšanas ziņā ir rauga sēnītes, t.i., *Candida spp.* (5–10%). Pelējuma sēnīšu vidū ir šādi onihomikozes ierosinātāji: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis brevicaulis* un *Scytalidium spp.* [Nenoff, 2012].

Dermatofītiem ir raksturīga keratofilātē – spēja noārdīt un izmantot keratīnu. Dermatofītiem ir vairāki proteolītiski fermenti, kas ļauj sēnītēm iekļūt ādā un nagos [Zahur,

2014]. Parasti dermatofīti sākumā skar pēdu ādu, bet pēc tam – nagus. Nagos sēnītes iekļūst trīs dažādos veidos [Hay, 2011]:

- 1) no naga distālās malas caur *hyponychium*,
- 2) caur naga plātnītes dorsālo virsmu,
- 3) caur proksimālo naga valnīti.

Visbiežāk dermatofīti iekļūst nagā no distālās, t.i, brīvās vai laterālās plātnītes daļas, turklāt pamata patoloģiskie procesi norit nevis pašā plātnītē, bet gan naga gultnē. Kā atbilde uz sēnītes invāziju naga gultnē sākas paātrināta šūnu proliferācija, kā dēļ vēro zemnaga hiperkeratozi. Raga slāņa sabiezēšana pie naga gultnes malām traucē naga gultnes savienošanos ar naga plātnīti, kas pat agrīnās slimības stadijās klīniski izpaužas kā oniholīze – naga plātnītes atdalīšanās no naga gultnes. No naga gultnes sēnītes izplatās proksimālā virzienā. Iekļūstot naga plātnītē, sēnītes izraisa tās lēnu sabrukšanu. Parasti tieši tā plātnīti bojā *T. rubrum*. Dažām sēnītēm, piemēram, *T. mentagrophytes var. interdigitale*, piemīt īpaša keratofilitāte, un tās šķēļ naga plātnīti ievērojami ātrāk.

Cits veids, kā naga sēnītes iekļūst nagā, ir caur proksimālo naga valnīti, kur sēnītes uzreiz nokļūst naga matricēs distālā daļā. No šejienes tās iekļūst gan zem plātnītes, gan naga gultnē, radot distrofiskas naga izmaiņas [Achtermann, 2013].

Kandidozei vēro pavisam citu ierosinātāju iekļūšanas veidu matricē. Sākumā rodas iekaisums naga proksimālā valnītī. Tūska, audu sabiezējums un valnīša formas izmaiņas noved pie virsnaga plātnītes atdalīšanās no dorsālās plātnītes daļas. Jāpiebilst, ka kandidu izraisītā onihomikoze salīdzinoši biežāk vērojama roku nagiem, nevis kāju nagiem [Gautret, 2000].

Lielākā daļa pelējuma sēņu tiek uzskatītas par nepatogēniem vai tādiem izraisītājiem, kas paši nespēj izraisīt saslimšanu. Tomēr ir daži ierosinātāji, kas ir patogēni, piemēram, *Scytalidium dimidiatum* un *Scytalidium hyalinum*. Tomēr šīs sēnītes pārsvarā ir atrodamas tropiskajā joslā. Samērā izplatīta pelējuma sēnīte ir *Scopulariopsis brevicaulis*, kas rada aptuveni 3% no visām onihomikozēm [Hay, 2005].

Sēnīšu invāziju sekmē [Katsambas, 2005]:

- mehāniskas naga plātnītes traumas;
- ķīmiskie faktori (macerācija, mazgāšanas līdzekļi, attaukotāji);
- ciešu apavu valkāšana, īpaši no sintētiska materiāla (mitras un siltas vides radīšana);
- individuālas svīšanas īpatnības;

- pēdas deformācijas un anatomiskās īpatnības (plakanā pēda, šauras pirkststarpas, kas veicina sliktu aerāciju);
- naga plātnīšu ataugšanas ātrums (vecums, pavadošās slimības, apasiņošanas traucējumi).

Onihomikozes tiek dažādi klasificētas. Viena no klasifikācijām ir pēc naga biezuma izmaiņām, proti:

- normotrofiskais,
- hipertrofiskais,
- oniholītiskais,
- atrofiskais nags.

Naga plātnīšu biezums skaitās samazināts, ja tas veido 0,30–0,45 mm, bet nagi ir sabiezēti, ja biezums sasniedz 0,5–0,6 mm [Werner, 2013].

Pie normotrofiskā tipa mainās tikai nagu krāsa, bet pati naga plātnīte saglabā savu konfigurāciju un biezumu. Tomēr pašas plātnītes iekšā parādās plankumi un svītras, kuru krāsa variē no baltas līdz dzeltenai, taču saglabājas naga spīdums un biezums.

Pie hipertrofiskā tipa vēro naga plātnītes izteiktu sabiezēšanu uz zemnaga hiperkeratozes rēķina, nags zaudē spīdumu, kļūst blāvs, deformējas, pat līdz onihogrifozei (īpaša naga sabiezēšanas forma, kad veidojas putna nagiem līdzīgas izmaiņas). No naga plātnītes brīvās un sānu malas redzama īpaša “izgrauztā” naga aina. Pie šī onihomikozes paveida pacienti sūdzas par sāpēm staigājot [Hay, 2011].

Oniholītiskā tipa onihomikozei ir raksturīga samērā ātra plātnītes atdalīšanās no gultnes, turklāt nags kļūst blāvs, iegūst pelēcīgu nokrāsu. Atklāta naga daļa ir klāta ar irdeniem hiperkeratotiskiem uzslāņojumiem, bet proksimālā daļa ilgu laiku var palikt bez nozīmīgām izmaiņām [Weitzman, 1999].

Mūsdienās zinātnieki [Habif, 2009] piedāvā izmantot šādu onihomikožu klasifikāciju:

- distāla vai distāli laterāla onihomikoze,
- bāla virspusēja onihomikoze,
- proksimāla subungvāla onihomikoze,
- totāla distrofiska onihomikoze.

Klīniski visbiežāk vēro dermatofītu ierosinātu onihomikozi, kas izpaužas kā distāla vai laterāla forma. Pie šīs formas sākumā novēro oniholīzi pie brīvās un sānu malas, nags zaudē spīdumu, caurspīdīgumu, kļūst bālgans vai dzeltenīgs. Naga mala kļūst plāna, drūp. Nags izskatās sabiezēts uz zemnaga hiperkeratozes rēķina. Patoloģiskais process var ilgi noritēt tikai kā malas

bojājums, pēc tam progresē, skarot arvien lielāku naga daļu. Slimības beigu stadijā vēro visas redzamās naga virsmas, kā arī matrices iesaistīšanos procesā, kas noved pie naga distrofijas [Stewart, 2012].

Proksimālā onihomikoze ir reta slimības forma. Klasiski vēro bālganu plankumu *lunula* rajonā, kas pakāpeniski izplatās uz brīvās malas pusi.

Pie totālās onihomikozes patoloģiskie procesi skar visu naga plātnīti.

Atsevišķi tiek izdalīta balta virspusējā onihomikoze – mikotiskā leikonihija, kam raksturīgi bālgani pleķi, kas parādās pie proksimālā valnīša un pēc tam pakāpeniski izplatās pa visu naga virsmu. Šī klīniskā aina ir raksturīga pie *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* infekcijas [Seebacher, 2007].

1.5. Onihomikozes klīniskā smaguma indekss

Onihomikozes gadījumā ir samērā grūti objektīvi novērtēt slimības smagumu. Tomēr, kā jebkurai citai slimībai, tai var būt vieglākas un smagākas formas. Lai varētu objektivizēt jēdzienu “onihomikozes smagums”, ir nepieciešama viena visiem saprotama mērvienība, proti, onihomikozes smaguma indekss.

Šāds indekss īpaši nepieciešams gadījumos, kad jāiedala pētījuma pacienti grupās vai arī jāatlasa, piemēram, tikai tādi pacienti, kuriem ir smaga onihomikoze.

Tātad klīniskais onihomikozes smaguma indekss ir vērtība, ko nosaka ārsts, lai varētu novērtēt, cik smagas ir onihomikozes klīniskās izpausmes pacientam. Tas dod informāciju par to, vai būtu nepieciešama iekšējā terapija, kāds varētu būt tās prognozējamais ilgums, kā arī, vai pacientam būtu nepieciešamas kādas blakus ārstēšanās metodes.

Nepieciešamība pēc sistēmiskās terapijas tiek izvērtēta individuāli, bet biežāk tiek minēti šādi faktori:

- distāli laterālā onihomikozes klīniskā forma;
- proksimālā forma;
- totālā forma;
- ja skarta vairāk nekā puse naga;
- matrices iesaistīšanās procesā;
- izteiktas naga izmaiņas – hiperkeratoze, oniholīze;
- ja skarti vairāk nekā 2–3 nagi;

- lokālas terapijas neefektivitāte;
- onihomikozes un ādas vai matu izplatīta bojājuma līdzpastāvēšana [Habif, 2009].

Pēc A. Sergejeva (Maskavas Mikoloģijas institūts) pētījumu rezultātiem, izvēloties onihomikozes terapijas ilgumu, jāņem vērā klīniskā saslimšanas forma, zemnaga hiperkeratozes izpausme saslimšanas distālās formas gadījumā, kā arī naga bojājums, t.i., skartā distālā naga garums no brīvās malas (1/3, 2/3 no naga plātnītes un totāls bojājums). Tas, cik daudz ir izmainīts nags no distālās malas virzienā uz naga proksimālo daļu, norāda uz procesa ilgumu un iespējamo matricē iesaistīšanos tajā.

Izteiktā hiperkeratoze traucē lokāliem terapijas līdzekļiem nokļūt naga gultnē, kā arī sistēmisko līdzekļu nokļūšanai caur gultni uz naga plātnīti. Dobumi hiperkeratotiskās masās un naga gultnē ir noturīgas infekcijas rezervuāri. Šim nozīmīgajam faktoram, kas nosaka terapijas taktiku, tika veltīti vairāki pētījumi [Sergeev, 2002].

Klīniskā forma, onihomikozes skartās naga daļas garums un hiperkeratozes izpausmes ir galvenie parametri, kuri tika izmantoti onihomikožu klīniskās novērtēšanas smaguma indeksa (SCIO – *scoring clinical index for onychomycosis*) izstrādē.

Indekss piedāvā universālu sistēmu terapeitisko risinājumu pieņemšanā onihomikozes gadījumā. Katrai onihomikozes klīniskai formai, skartā naga garumam un zemnaga hiperkeratozes pakāpei atbilst vienotās trīs ballu sistēmas skalas balle. Šie faktori tiek izvērtēti kopā ar faktoriem, kas nosaka naga ataugšanu: bojājuma lokalizāciju un pacienta vecumu. Minēto parametru kopums veido īpašu onihomikozes klīniskā indeksa (SCIO) matemātisko formulu, kas dod rādītāju diapazonu.

Terapijas metodes izvēlei, kā arī sistēmiskās terapijas ilguma aprēķinam visērtāk pielietot SCIO indeksu speciālā lineāla veidā. Rotējot speciālos lineāla aplus, ārsts saliek kopā esošo klīniskā bojājuma formu, bojājuma garumu un hiperkeratozes pazīmes ar bojājuma lokalizāciju un slimnieka vecumu un iegūst SCIO rādītāju. Terapijas shēma un ilgums tiek izvēlēts pēc iegūtā rādītāja (sk. 1.1. tab.) [Sergeev, 2002].

**Sistēmiskās pretsēnīšu terapijas shēmas, kas noteiktas pēc
SCIO indeksa vērtības**

SCIO indeksa vērtība	Rekomendējamā terapija
1–3	lokāla terapija
3–6	lokāla terapija, lai gan tās panākumi ir atkarīgi no naga ataugšanas ātruma; iespējama sistēmiska terapija
6–9	sistēmiska terapija, izmantojot shēmas roku onihomikozes terapijai, piemēram, 2 itrakonazola pulsi – terapijas cikli
9–12	sistēmiska terapija, izmantojot shēmas kāju onihomikozes terapijai, piemēram, 3 itrakonazola pulsi – terapijas kursi
12–16	ilgāks sistēmiskās terapijas kurss, piemēram, 4–5 itrakonazola pulsi – terapijas cikli
16–20	kombinēta terapija ar sistēmiskā preparāta un keratolītiķu nozīmēšanu
20–30	naga plātnītes noņemšana (piemēram, 40% urīnvielas plāksteris) vai ķirurģiska avulsija un naga gultnes tīrīšana, kā arī sistēmiska terapija

- Ja kopējais rādītājs >10 , tas norāda uz izplatītu bojājumu lēni augošiem nagiem – sistēmiska terapija.
- Ja kopējais rādītājs > 16 , tad nepieciešama kombinēta terapija un pagarināts terapijas ilgums.

Pētījumi, kuros tika izmantots šis indekss, parāda, ka mūsdienu onihomikozes smaguma struktūrā prevalē bojājumi, kuri atbilst sistēmiskās terapijas izvēlei. Interesanti, ka sistēmiskā terapija, ņemot vērā SCIO rādītāju, bieži pieprasa ilgstošu ārstēšanu, kas pārsniedz standarta terapijas kursus. Šāda veida klīniskā aina pašlaik tiek novērota 1/4 onihomikozes gadījumu. Tas tāpēc, ka pusei slimnieku ir plaši kāju īkšķu bojājumi un slimības vidējais ilgums ir 10 gadi [Hay, 2008].

Kopumā onihomikozes iedalījumā pārsvaru gūst kāju nagu bojājumi, kas jau paredz ilgstošas terapijas nepieciešamību. Slimniekiem ar zemnaga hiperkeratozi biežāk tika konstatēta vidēja vai izteikta pakāpe, kas norāda uz smagu vispārējo gaitu. Biežā hiperkeratozes atrade liek izvēlēties kombinēto terapiju ar keratolītiķu pievienošanu. Ne mazāk kā 1/3 saslimšanas gadījumu nepieciešama pilnīga vai daļēja naga plātnītes likvidēšana un pēc tam arī naga gultnes tīrīšana. Tādā veidā kombinētā pretsēņu – keratolītiskā (ablatīvā) terapija ir viena no biežāk pieprasītām onihomikozes terapijas metodēm. Ir atrodami dati arī par mērķtiecīgu mehānisku, lāzera nodrošinātu nagu perforāciju, lai veicinātu preparāta nokļūšanu naga gultnē, – “*drill to kill*” [Ruth, 2007].

SCIO indeksu var izmantot terapijas efektivitātes izvērtēšanai, kā arī ar onihomikozi saistītos zinātniskos pētījumos, kuros dalībnieki ir jāiedala klīniskā smaguma grupās. Pasaulē vēl nav izdomāts un pieejams šī indeksa analogs.

Šis indekss parāda, ka, plānojot terapiju un vērtējot tās iznākumu, ir jāreķinās ar vairākiem faktoriem, kuriem parasti netiek pievērsta vajadzīgā uzmanība. Vienmēr jāreķinās ar ierosinātāju, jo pelējumu izraisīti bojājumi tiek uzskatīti par nelabvēlīgu rādītāju. Pēc A. Sergejeva un līdzautoru domām, slikts rādītājs ir jauns pacients vai pacienti gados. Jāņem vērā blakusslimības, īpaši pacientiem pēc 60 gadu vecuma, jo pieaug risks diabēta attīstībai, imūnam nomākumam un perifēro asinsvadu slimībām. Protams, bojājuma lokalizācijai, plašumam un hiperkeratozes pazīmēm ir liela nozīme onihomikozes gaitā.

Veiksmīga onihomikozes terapija tiek nozīmēta tikai pēc atbilstošā antimikotiskā aģenta izvēles. Nozīmīgs pacientu skaits, ap 25–40%, tiek klasificēts kā terapijas kļūdas. Tādi faktori kā pacienta uzticēšanās ārstam, biopieejamība, penetrācija, sēņu virulence, zāļu mijiedarbība un rezistence ietekmē terapijas panākumus. Pacientu uzticība ārstam ir atkarīga no terapijas ilguma, sarežģītības, terapijas niansēm un iespējamām blaknēm. Lai ilustrētu pacientu līdzestību, ir veikts pētījums, kurā parādīts, ka sistēmisko terapiju pabeidz tikai 12% pacientu, bet 40% pacientu terapiju nepabeidz [Hay, 2005].

1.6. Onihomikozes diagnostika

Infekcijas izārstēšanai ļoti svarīga ir ātra un precīza diagnostika. Pašlaik Latvijā plaši pielieto divas diagnostiskas metodes: mikroskopēšanu pēc KOH pievienošanas paraugam (kālija hidroksīda tests) un uzsējumu uz *Saburo* barotnes. Visā pasaulē šīs metodes kopā ir pieņemts uzskatīt par “zelta standartu” mikotiskās infekcijas diagnostikā. Iespējama arī biopsijas materiāla mikroskopēšana pēc speciāla krāsojuma PAS, bet to ikdienas praksē pielieto ļoti reti, biopsijas materiālu papildus izmeklējot uz sēņu elementiem. Personīgie novērojumi rāda, ka ārstu taktika sēnīšu infekcijas diagnostikā ir dažāda. Vieni izvēlas tikai ātro KOH testu, lai noteiktu, vai vispār ir sēnīte. Citi nozīmē gan KOH testu, gan arī uzsējumu, kas diemžēl rezultātu dod tikai aptuveni pēc viena mēneša. Šī analīze ir svarīga, jo dod atbildi, kāda sēnīšu grupa izraisījusi saslimšanu.

Ir veikti pētījumi ($n = 101$), kuros salīdzināja standarta laboratorijas testu (KOH tests un uzsējums uz *Saburo* barotnes) jutīgumu un specifiskumu ar histopatoloģisko izmeklēšanu (PAS krāsojums). Izmantojot KOH testu, pozitīvs rezultāts izrādījās 53% gadījumu, izmantojot uzsējumu – 35%, bet patohistoloģiskā izmeklēšanā – 75%. Jutīgums šīm diagnostiskās metodēm pret kontroli bija attiecīgi: PAS krāsojumam – 90%, KOH – 64% un kultūrai – 42% [Shenoy, 2008].

Analizējot visas trīs pašlaik plaši pielietotās sēnīšu infekcijas diagnostiskās metodes (KOH testu, uzsējumu, biopsiju ar PAS krāsojumu), lielāko jutīgumu uzrādīja PAS krāsojums. Katras tehnikas jutība bija šāda: KOH – 80%, biopsija (PAS) – 92%, uzsējums – 59%. Tātad gan KOH tests, gan arī biopsija ir daudz jutīgākas metodes nekā uzsējums. Metožu specifiskums bija šāds: KOH – 72%, biopsija (PAS) – 72%, uzsējums – 82%. Tādējādi biopsija (PAS metode) būtu pielietojama gadījumos, kad citas metodes ir negatīvas pie izteiktas klīniskas ainas [Weinberg, 2003].

Cits pētījums ($n = 96$) parāda, ka histoloģiskā izmeklēšana ir visjutīgākais tests onihomikozes diagnostikai ar jutību 80,8%. Visjutīgākā testu kombinācija ir mikroskopija kopā ar histoloģiju, kam piemīt 97,8% jutīgums [Karimzadegan, 2007].

Salīdzinot naga virspuses kiretāžas metodi ar materiāla paņemšanu urbšanas veidā, t. i., biopsiju, noskaidrots, ka biopsijas metodei piemīt daudz lielāka jutība nekā kiretāžai.

Svarīgs trūkums pašreizējā sēnīšu infekciju diagnostikā ir negatīvie uzsējumi. Negatīvo uzsējumu problēma tika apskatīta pētījumā, kurā 83 laboratorijas rezumēja gada laikā veikto nagu pārbažu mikroskopijas un uzsējumu kopējo pozitīvo jeb 45% līmeni. Pēc pētījuma ekspertu domām, cēlonis bija paraugu noņemšanas un sadalīšanas kļūdas. Analizēto paraugu vidū neadekvāta kvalitāte bija 10–30%, adekvāta – 50–60%, bet 10–20% bija aprakstīti kā teicami [Nenoff, 2014].

Pēc Stvarda (Stewart) un līdzautoru domām, tieši histoloģija ir visjutīgākais nagu izmeklējums, kas dod iespēju noteikt reziduālo infekciju pēc terapijas ar iekšķīgiem antimikotiskiem preparātiem [Stewart, 2012].

Visām pašreiz lietotām metodēm ir savi trūkumi, kas saistīti ar laika patēriņu, nepietiekamu precizitāti un katra konkrēta ārsta un laboranta subjektīvo skatījumu. Zinātnes progress un sasniegumi molekulārajā bioloģijā liek meklēt jaunas iespējas sēnīšu infekcijas diagnostikai.

Pamazām pasaulē sāk ieviest dermatofītu DNS polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) diagnostiku, kas tagad ir pieejama arī Latvijā. Lielākais ieguvums, izvēloties šo metodi, ir atbildes ātrums, jo rezultāts ir zināms jau pēc pāris dienām. Tomēr šī metode ir dārgāka, to piedāvā tikai viena laboratorija, kas nosaka tikai dermatofītu sugu infekcijas.

Izmantojot PCR metodi, var *in vitro* selektīvi “bagātināt” preparātu ar zināmas secības DNS fragmentu miljons un vairāk reižu. PCR izmanto noteiktu nukleotīdu lokusu secības individuālo variāciju analīzei, pētāmo genomu mērķa secību klonēšanas efektivitātei un to tiešajai sekvencēšanai, organisma patogēno mikroorganismu noteikšanai.

Pētījumi liecina, ka jutīgums šai diagnostikai sasniedz 83,6% un ir no 75 līdz 100% atbilstīgi laboratorijai un paraugu stāvoklim. Savukārt specifiskums diagnostikai bija 100%, kad rezultātu salīdzināja ar veselo kontroli. Lietojot dermatofītu PCR diagnostisko komplektu, “*Onychodiag*” rezultāts bija pozitīvs 49/53 (92%) gadījumos no iepriekš pierādītām dermatofītiskām onihomikozēm. “*Onychodiag*” nodrošināja dermatofītisko onihomikožu diagnozi 24 līdz 48 h laikā pēc paraugu ņemšanas [Savin, 2007].

Pašlaik daudzi zinātniskie centri strādā pie jaunām mikožu diagnostikas metodēm, kas būtu gan ātras, gan arī precīzas, tomēr tās visas vēl atrodas izstrādes procesā un nepieciešams laiks, lai tās iekļautu ārsta ikdienas praksē.

Vērts pieminēt Vācijas sasniegumu – optisko koherences tomogrāfiju. Šī metode atgādina ultraskaņas izmeklēšanu, tikai tiek izmantoti ultrasarkanie gaismas viļņi (843 nm), kas vizualizē *in vivo* sēņu elementus onihomikozes gadījumā. Metodes izšķiršanas spēja ir 10–20 mkm, bet caurklūšanas spēja ir daži milimetri. Metode ir ātra, viegla un droša onihomikozes diagnostikā [Abuzahra, 2010]. Otrs Vācijas autoru darbs apraksta *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)*, kad ar fotonu palīdzību tiek sašķelti un jonizēti analizējamie audi un ar masu spektrometrijas palīdzību noteikti konkrēti peptīdi. Ātruma un precizitātes ziņā šī metode pārsniedz standartmetodes [Pföhler, 2009].

1.7. Naga biopsija

Kaut gan ikdienas praksē onihomikozes diagnosticēšanai izmanto mikroskopiju un uzsējumu, tomēr dažreiz rodas situācijas, kad bez naga biopsijas diagnozi noteikt nevar. Naga biopsijas rezultātā iegūst materiāla paraugu, kuru var izmeklēt histoloģiski.

Primārs naga biopsijas mērķis ir klīniski noteikt vai apstiprināt kādu diagnozi un sākt ātru un efektīvu terapiju, lai novērstu naga destrukciju. No naga vienības biopsijas jāizvairās, ja pacientam zināmas perifēro asinsvadu slimības, kolagenozes, diabēts, imūndeficīts [Martin, 2013].

Biopsija veicama pie šādām indikācijām [Rich, 1992]:

- lai noteiktu mikotisko organismu patogenitāti terapijai nepakļāvīgas mikotiskās infekcijas gadījumā;
- lai konstatētu psoriātiskus nagus vai citu oniholīzes iemeslu, kas kombinējas ar onihomikozi;
- lai noteiktu un ārstētu sāpju iemeslu – ieauguši nagi, audzēji;
- lai agrīni diagnosticētu longitudinālas pigmentētas naga svītras; malignus subungālus un periungālus audzējus, kā arī labdabīgus audzējus, piemēram, subungālo ekzostozi;

- lai atšķirtu infekciozās dabas saslimšanas (onihomikoze) no iekaisīgām slimībām (*lichen planus*);
- lai iegūtu diagnostisku un prognostisku informāciju izolētas naga patoloģijas gadījumos, kad citi diagnostiskie mēģinājumi bijuši nesekmīgi.

Pieņemama histoloģiskā materiāla izmeklēšanai, kā arī laba kosmētiska rezultāta iegūšanai ir jāņem vērā daži nosacījumi [Norton, 2005]:

- pirms biopsijas nozīmēšanas ir jāizmēģina visi citi diagnostiskie pasākumi, kas nes labumu, bet kuriem nav riska un komplikāciju;
- nagu ķirurgs veic biopsiju pēc iespējas mazākā naga vienības laukumā, saglabājot veselos audus pēc iespējas mazāk skartus;
- jāizvairās ņemt biopsiju naga matricēs rajonā;
- naga gultnes paraugiem jābūt longitudināliem, bet naga matricēs paraugiem – šķērsām vai horizontāli naga plātnītei. Atkarībā no patoloģijas izvietojuma longitudināli biopsiju paraugi vislabāk tiek iegūti pie naga laterālās malas (samazināts risks naga rētošanās procesam);
- visām incīzijām gultnes rajonā jābūt veiktām līdz kaula falangai; ja izgrieztais laukums lielāks par 2 mm diametrā, tad tas pēc tam ir slēdzams ar neilona diegiem;
- anestēzija un tās veikšana tiek dokumentēta pirms invazīvās procedūras sākuma. Iegūto materiāla paraugu krāso ar PAS vai *Gomori methamin-silver*. Daži sēņu elementi var būt neredzami, ja tos krāso tikai ar hematoksilīnu un eozīnu (H/E) [Lillie, 1976; Avwioro, 2011].

Naga plātnītes un zemnaga audu biopsija veicama, lai diagnosticētu mikotisko vai arī citu dermatožu izraisītu naga distrofiju. Naga plātnītes biopsija parasti iekļauj distālās plātnītes daļas noņemšanu kopā ar daļu no zemāk esošajiem hiponīhija audiem ar grieznēm vai skalpeli. Ja ir aizdomas par mikotisko infekciju distālā naga plātnītē, tad alternatīva ir 3–4 mm *punch* trepānbiopsija. Mērķa pusē ar *punch* instrumentu darbojas, mēreni uzspiežot naga plātnītei, līdz sasniedz periostu. *Punch* instrumentu izņem, un audu gabaliņu histopatoloģiskai izmeklēšanai izgriež ar šķērēm vai skalpeli.

Onihomikozes izslēgšanai var tikt pielietota neinvazīva keratīna biopsijas tehnika. Šī biopsijas tehnika tiek lietota papildus, lai palīdzētu diferencēt hemosiderīnu un melanīna pigmentu gadījumā, kad nagam ir brūna vai melna diskolorācija [Karimzadegan-Nia, 2007].

Divu *punch* biopsija tiek lietota, kad gan naga plātnīte, gan arī naga gultne ir iesaistītas patoloģiskā procesā. Šajā tehnikā lielākais *punch* tiek lietots kā pirmais, lai izveidotu cirkulāru defektu naga plātnītē, bet ar mazāko *punch* paņem naga gultnes audus. Ja naga plātnīte ir primārais parauga mērķis, tad ātra *punch* biopsija var būt veikta arī bez anestēzijas. Pēc biopsijas ir veicama hemostāze ar spiedienu un uzlikts pārsējs.

Naga gultnes biopsija var tikt veikta, lai atvieglotu precīzu audzēja diagnozi, diagnosticētu izolētu nezināmu bojājumu naga gultnē vai diagnosticētu slimību. Pastāv dažādi naga gultnes biopsijas veidi [MacFarlane, 2010].

Standarta naga gultnes *punch* biopsija ir viena no biežākām ķirurģiskām procedūrām naga vienībā. Pie plašas audu deformācijas vai pie neskaidras dabas bojājuma pirms naga gultnes biopsijas ir ieteicama radiogrāfiska iesaistītā naga izmeklēšana. Lai paņemtu naga gultnes paraugu, var tikt veikta plātnītes distālās puses daļēja avulsija vai pilnīga avulsija, kas ļauj tieši vizualizēt slimības procesu zemāk esošajā naga gultnē [Sher, 2006].

Pēc avulsijas tiek veikta 3 mm *punch* biopsija no naga gultnes līdz periostam. Ar šķērēm atbrīvo parauga gabaliņu. Ķirurgs var veikt longitudinālo elipsveida naga gultnes ekscīziju. Proksimālā naga plātnītes avulsija jāveic, kad ir aizdomas par *glomus* audzēju. Gadījumā, ja naga avulsiju neveic, var būt pietiekama tikai naga novīlēšana (plāna plātnītes daļa).

Alternatīvā variantā tiek saglabāta intakta naga plātnīte. Šādā gadījumā veic dubultu *punch* tehniku. Sākumā tiek izmantots 4 līdz 6 mm *punch*, lai cirkulāri likvidētu plātnīti. Otrais, mazākais 3 līdz 4 mm *punch*, tiek izmantots parauga paņemšanai caur izveidoto caurumu [Haneke, 2000; Haneke, 2011].

Situācijās, kad vēlama PAS krāsošana, lai noteiktu sēņu elementus un atšķirtu hronisku onihomikozu no citām naga distrofijām, tiek veikta biopsija no distālās naga gultnes daļas un hiponīhija. Ja *punch* ir 3 mm un mazāks, tad bojājums var tikt atstāts dzīt sekundāri. Ātri veidojas granulācijas audi. Pie longitudinālas ekscīzijas, kas lielāka par 2 mm, ir jādomā par ķirurģisku slēgšanu, īpaši, ja epitēlijs ir dziļi bojāts. Tiek izmantoti 4,0 vai 5,0 diegi. Pēc biopsijas hemostāzei lieto 35% alumīnija hlorīda šķīdumu 50% izopropilspirtā (*Monseal solution*), izmanto absorbējošo pārsēju. Parasti sasniedz teicamu dziļšanu ar minimālu naga rētošanās iespēju. Dažreiz parauga ņemšanas pusē nags var šķelties [Haneke, 2000].

1.8. Audu iekaisuma un remodelācijas marķieri

1.8.1. Interleikīni

Interleikīni ir sekretorie proteīni jeb citokīni, kas darbojas kā ķīmiski imūnsistēmas pārstāvji un piedalās hiperjutīguma un iekaisuma atbildes reakcijās, regulē T un B limfocītu atbildes reakciju imūnās atbildes laikā pret antigēnu.

Imūnās sistēmas atbilde lielā mērā ir atkarīga no citokīniem un to daudzuma, tāpēc arī tie ir labi aprakstīti autoimūno slimību un imūnās novājināšanās gadījumā.

Galvenais imūnregulējošo citokīnu avots organismā ir $CD4^{+}T$ šūnas, kas diferencējas T_H1 un T_H2 subpopulācijās. T_H2 šūnu un makrofāgu producētais IL-10 inhibē T_H1 šūnu produkciju un makrofāgu funkciju, savukārt T_H1 sekretē interferonu- γ (IFN- γ), kurš aktivizē makrofāgus, inhibē B šūnas un ir toksisks atsevišķiem šūnu veidiem [Brocker, 2010].

IL-1 ir galvenais iekaisuma procesa regulācijā. IL-1 ražo aktivēti makrofāgi, keratinocīti, fibroblasti un aktivētās B šūnas. Izšķir interleikīnu-1 alfa un interleikīnu-1 beta, kurus kodē divi atsevišķi gēni. IL-1 piedalās autoimūnās reakcijās, kā arī tam ir nozīme hematopoēzes regulācijā. IL-1 aktivitāte pamatojas uz trīs darbībām: vielu sintēzi un palaišanu, iedarbību uz membrānu receptoriem, kā arī intracelulāra signāla transdukciju. Galvenie intracelulārie komponenti, kas iesaistās celulārā atbildē ar IL-1, mediē atbildi arī citiem citokīniem (IL-18 un IL-33), Toll-līdzīgiem receptoriem un daudzām citotoksiskā stresa formām [Gabay, 2010; Weber, 2010].

IL-6 kā proinflammatorais citokīns ir iesaistīts gandrīz katras orgānu sistēmas fizioloģijā. IL-6 ražo T limfocīti, makrofāgi un endoteliocīti. Īpaši svarīga loma IL-6 ir leukocītu rekrutēšanas procesā iekaisuma laikā [Romano, 1997]. Tomēr IL-6 piemīt arī otra – pretiekaisuma – īpašība, kas izpaužas kā TNF inhibīcija un IL1-RA indukcija. Pētot apoptozes indukciju keratinocītos, tika atrasts, ka, stimulējot šūnas ar IL-6, IL-10, IL-12, TGF-beta 1 un GM-CSF, FasL receptoru ekspresija (apoptozes mediācija) netiek modulēta. Savukārt, stimulējot šūnas ar IL-1 beta, TNF-alfa, IFN-gamma, IL-15, FasL ekspresija uz šūnas virsmas tika stimulēta [Arnold, 1999].

Nesenos pētījumos ir pierādīta IL-6 svarīgā loma, regulējot līdzsvaru starp IL-17 producējošo Th17 un T regulatorajām šūnām. IL-6 pārlieka produkcija vai disregulācija veicina autoimūno slimību attīstību, kur Th17 šūnas tiek uzskatītas par galveno patoloģijas rādītāju [Kimura, 2010; Fujimoto, 2011].

IL-10 citokīnu saimei pieder deviņi citokīni: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, kā arī IL-28A, IL-28B un IL-29. Šie citokīni izdalās no epiteliālām šūnām dažādu infekciju laikā. Ir pierādīta šī citokīna nozīme epiteliālās aizsardzības sistēmas homeostāzes nodrošināšanā. Tie piedalās arī audu dzīšanas procesos pie iekaisumu un infekciju rakstura bojājumiem. Nepieciešamības gadījumā IL-10 spēj apspiest proinflammatoro atbildi audos, tādējādi saglabājot tos veselus [Ouyang, 2011].

Interlekīns-10 ir proteīns, kas inhibē daudzu citokīnu sintēzi, tostarp IFN- γ , IL-2, IL-3, TNF, GM-CSF, ko ražo aktivēti makrofāgi un T šūnas [Zdanov, 1995].

1.8.2. Matrices metaloproteināze-2

Matrices metaloproteināzes (MMP) ir specifiski proteolītiski enzīmi, kas nodrošina un uztur ekstracelulārās matrices remodelāciju angiogēnēzes, audu dzīšanas procesos, embriogēnēzē, audzēju metastazēšanās procesā, kā arī dažādu kardiovaskulāro un iekaisuma slimību gadījumā [Sariahmetoglu, 2007]. MMP un ar tām saistītie endogēnie inhibitori (TIMP – *tissue inhibitor of metalloproteinases*) kopā tiek apzīmēti par MMP sistēmu. Mūsdienās ir zināmi vairāk nekā 20 MMP pārstāvji. Iekaisuma šūnas, īpaši makrofāgi, spēj sintezēt, uzkrāt un izdalīt MMP-2 un MMP-9. Ir zināms, ka makrofāgi spēj sintezēt vairāk nekā 100 dažādu vielu, piemēram, citokīnus, MMP, TIMP, augšanas faktorus un citus, tādā veidā modificējot ekstracelulārās matrices sastāvu dažādu procesu laikā. Tādējādi MMP-2 var saukt par ekstracelulārās matrices degradācijas katalizatoru. MMP-2 kopā ar MMP-9 degradē IV tipa kolagēnu, kas visvairāk atrodas saistaudu pamatvielā [McCawley, 2001].

Papildus šie enzīmi spēj likvidēt jebkuras makromolekulas, kas atrodas starpšūnu matricē. Audu remodelācijas procesā MMP-2 visvairāk tiek izdalīts mezenhimālās šūnās, lielākoties fibroblastos [Sawicki, 2013].

1.8.3. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) ir signālproteīns, ko iztrādā šūnas, lai stimulētu vaskuloģenēzi (embrionālās vaskulārās sistēmas veidošanās) un angiogēnēzi (jaunu asinsvadu augšana jau esošā vaskulārā sistēmā). Pašlaik izdala vairākus šīs saimes faktorus, kurus savukārt pieskaita pie lielas “cisteīna mezgla” (*cystine-knot growth factors*) augšanas faktoru saimes [Shibuya, 2006; Sun, 1995].

VEGF ir olbaltumi, kas atbild par skābekļa piegādi audiem situācijās, kad asins cirkulācija nav pietiekama. VEGF koncentrācija serumā pieaug bronhiālās astmas, bet samazinās cukura diabēta gadījumā. VEGF pamata funkcija ir inducēt jaunu asinsvadu veidošanos embriogēneses laikā vai tādu rašanos pēc traumas, muskuļu augšanas pastiprināšanās pēc fiziskās slodzes, kolaterālās asinsapgādes veidošanās laikā (jaunu asinsvadu rašanās, kad ir bloķēti jau esošie) [Karkkainen, 2000].

VEGF aktivitātes paaugstināšanās var izraisīt dažādas slimības. Tā, piemēram, daži audzēji nevar izaugt lielāki par kādu noteiktu izmēru, ja nesaņem adekvātu asinsapgādi.

Tomēr audzēji, kas var ekspresēt VEGF, var augt un metastazēt. Pārlietu liela VEGF ekspresija var izraisīt asinsvadu slimības dažādās ķermeņa vietās, piemēram, acs tīklenē. VEGF aktivitāte ir pētīta galvenokārt endotēlija audos, bet faktors ietekmē arī citas šūnu grupas, piemēram, stimulē monocītus / makrofāģus, iedarbojas uz neironiem, audzēju šūnām, kā arī nieru epiteliālām šūnām [Olsson, 2006]. Pētījumos *in vitro* ir pierādīts, ka VEGF stimulē asinsvadu caurlaidību.

Visi VEGF saimes locekļi stimulē šūnas atbildi, saistoties ar tirozīnkināzes receptoriem (VEGFR) uz šūnu virsmas [Shibuya, 2006].

1.8.4. Neuropeptīdus saturošās inervācijas marķieris PGP9,5

Proteīna gēna produkts 9,5 ir šķīstošs proteīns, ko ieguva no smadzeņu vielas 1983. gadā [Thompson, 1983]. Tas tiek uzskatīts par galveno neironu un neuroendokrīno šūnu marķieri. Šī viela ir atrodama centrālās un perifērās nervu sistēmas, kā arī neuroendokrīno šūnu citoplazmā [Lauweryns, 1988; Day, 2010]. PGP9,5 konstatē arī ārpus nervu sistēmas audiem – nierēs, ovocītos, *corpus luteum*, spermatogonijos un Leidiga šūnās [Wilson, 1988].

Ir publikācijas par PGP9,5 atrašanos audos dažādu audzēju un neirodeģeneratīvu slimību gadījumos [Kasprzak, 2007; Day, 2010; Witt, 2009].

Johansons ir publicējis pētījuma datus par intraepidermālo nervu šūnu atradi dažādos ādas reģionos [Johansson, 1999]. Par marķieri šajā darbā tika izmantots PGP9,5. Mūsdienās PGP9,5 noteikšana ādas *punch* biopsijā tiek uzskatīta par normu perifērās neiropatijas diagnosticēšanas procesā [Dauch, 2013].

1.8.5. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze

Apoptoze ir programmētā šūnu nāve, kas notiek, ja uz šūnu iedarbojas ārējie vai iekšējie signāli. Termins “apoptoze” pirmo reizi rakstos minēts jau 1972. gadā [Kerr, 1972].

Apoptozes procesi piedalās ne tikai šūnu diferenciācijas procesā un morfoģenēzē (keratinocītos, embriogēnēzē), homeostāzes un imūnās sistēmas funkcionēšanas nodrošināšanā, bet arī dažādu patoloģiju gadījumā, piemēram, audzējiem, HIV infekcijai, Alcheimera slimībai. Galvenā apoptozes funkcija ir likvidēt defektīvas šūnas (bojātas, mutējušas vai inficētas). Atšķirībā no nekrozes procesiem šeit vēro membrānu struktūras saglabāšanos. Morfoloģiski apoptozi raksturo: šūnas membrānas intergritātes saglabāšanās, šūnas samazināšanās izmēros, hromatīna kondensācija kodolā, apoptotisko ķermenīšu parādīšanās. Procesu pavada fagocitoze un minimāla iekaisuma reakcija audos [Kerr, 2002; Diamantis, 2008].

Pastāv divi pamatceļi apoptozes procesa sākumam šūnā [Elmore, 2007]:

- 1) caur apoptozes receptoriem;
- 2) mitohondriālais ceļš.

Apoptozes receptori ir proteīnu saime CD95 (Apo-1 vai Fas) un TNF-R (audzēju nekrozes faktors). Šo receptoru aktivācija palaiž kaspāzes-8 darbību, kas savukārt sāk reakciju kaskādes, kas noved pie apoptozes.

Mitohondriālais ceļš pilda centrālo lomu apoptozes procesos, šeit vēro mitohondriālās membrānas caurlaidības palielināšanos, kā rezultātā no mitohondrijiem atbrīvojas tādi pro-apoptozes peptīdi kā apoptozi rosinošs faktors AIF (*apoptosis inducing factor*), endonukleāze G, Smac / DIABLO molekulas un citohroms C. Citohroma C zudums no mitohondrijiem veicina apoptosomu veidošanos citoplazmā, kas aktivizē kaspāzi-9. Rezultātā notiek citoskeleta

reorganizācija, vienlaikus notiek DNS reparācijas mehānismu kavēšana, kaspāze-6 bojā kodolu un veicina hromatīna kondensāciju [Adrain, 2001].

Kopumā zināms, ka abi ceļi ir saistīti ar kaspāžu (cisteīna proteināžu) aktivāciju, kas palaiž šūnas nāves mehānismu. Ir zināmas 14 kaspāzes, ko pēc to darbības principa iedala iniciatoros, efektoros un stimulatoros.

Šūnu jutība pret stimuliem mainās atkarībā no pro-apoptotisko un anti-apoptotisko (Bcl-2) olbaltumu ekspresijas, stimulu stipruma un šūnas cikla stadijas.

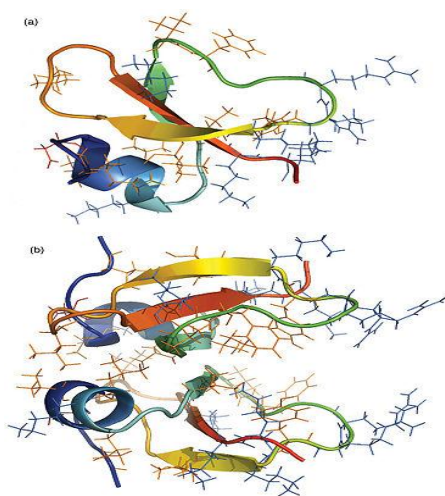
Radiācija, ķīmiskas vielas, vīrusu infekcijas, augšanas faktoru trūkums, oksidatīvais stress, Bcl-2 olbaltumu daudzums nosaka noteikto šūnas stresa daudzumu, kas nepieciešams, lai palaistu apoptozes procesu. Ja mitohondriji netiek galā ar aktīvo skābekļa formu likvidēšanu, tad skābekļa aktīvās formas iniciē membrānu poru atvēršanos. Tas veicina olbaltumu, kas palaiž apoptozes kaskādes reakcijas, nonākšanu citoplazmā [Bröcker, 2005].

Viena no populārākajām metodēm, ko lieto apoptotisko šūnu identifikācijai, ir TUNEL metode, kas vizualizē DNS fragmentāciju. Metode balstās uz deoksinukleotidiltransferāzes mediētās DNS terminālo 3-galu marķēšanu ar deoksiuridinfosfātu [Saraste, 1999; 2000].

Apoptozes inhibitori ir augšanas faktori, šūnu matrice, steroīdie hormoni un dažādu vīrusu olbaltumi, bet aktivatori ir augšanas faktoru trūkums, saiknes ar matrici zaudēšana, glikokortikoidi, daži vīrusi un brīvie radikāļi.

1.9. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas

Kopumā zināmi 1200 antimikrobie peptīdi. Tie ir mazas vienības: 12–50 aminoskābes ar pozitīvu lādiņu un amfipātisku struktūru. Pēc struktūras izšķir: α spirāles un β loksnes, ko stabilizē disulfīda tiltiņi, kā arī izstieptā vai cilpas struktūra (sk. 1.2. att.).



1.2. attēls. **Monomēriska (a) un dimēriska (b) hBD-2 struktūras prezentācija**

Zīmējums adaptēts no: <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/7/S5/S17/figure/F1?highres=y>

Ādā, keratinocītos atrodami vairāk nekā 20 AMP un proteīni, galvenokārt katelīdīni un β defensīni. Tie spēj tieši nogalināt mikrobu vai arī inhibēt to augšanu. Šī darbība saistīta ar antimikrobo peptīdu spēju ietekmēt membrānas lipīdu struktūras [Lai, 2010].

Ādā sintezētie AMP ir svarīga organisma aizsardzības sistēmas sastāvdaļa pret potenciālo mikroorganismu invāziju. Infekcijas vai bojājuma laikā AMP ekspresija ādā nozīmīgi pieaug, ko stimulē keratinocītu atjaunošanās un neitrofīlo degranulācija.

Katelīdīni ir AMP saime, kas tiek sintezētas peroksidāzes negatīvās neitrofīlu granulās. Šie savienojumi tiek sintezēti pārsvarā preolbaltumu veidā. Cilvēka katjoniskais antimikroba peptīds (hCAP18) patlaban ir vienīgais identificētais cilvēka katelīdīns. To atklāja ne tikai neitrofīlos, bet arī monocītos, limfocītos, plakanajos epiteliocītos (mutes dobumā, mēlē, barības vadā, dzemdes kaklā, makstī), plaušu epitēlijā, keratinocītos. Pierādīts, ka antibakteriālais C gala fragments hCAP18 – LL37 (37 aminoskābes) izrāda antimikrobo aktivitāti pret Gr⁺, Gr⁻ baktērijām, sēnītēm, vīrusiem, vienšūņiem. Šis peptīds izrāda sinerģisku antibakteriālu ietekmi kopā ar defensīniem. LL-37 var saistīt lipopolisaharīdu un neitralizēt tā spēju inducēt endotoksisko šoku. Šis peptīds ir svarīgs faktors brūču reepitelizācijā, tā angiogēnā aktivitāte tika pierādīta *in vivo* un *in vitro*. Turklāt LL-37 funkcionē kā hemotakses faktors neitrofīliem, monocītiem un T šūnām.

Defensīni ir nelieli katjoniskie peptīdi, kas iedarbojas uz mikroorganismiem, bojājot membrānu caurlaidību un veidojot jonu kanālus. Zīdītāju defensīniem izdala divas pamatgrupas: alfa un beta defensīnus. Alfa defensīni (1–4) ir azurofīlās neitrofilo leukocītu granulās. Trīs defensīni (alfa 1–3) veido lielāko daļu (~99%) šīs grupas AMP. Tos sintezē tikai neitrofīlie, tāpēc defensīnus uzskata par specifiskajiem šo šūnu marķieriem. Neitrofilu aktivācija iekaisumos un infekcijās izraisa ātru defensīnu atbrīvošanu plazmā un citos organisma šķidrumos. Normālā plazmā atrod ļoti zemu defensīnu līmeni (no nenosakāmiem lielumiem līdz 50–100 ng/ml), taču sepses apstākļos defensīnu līmenis var pieaugt līdz pat 10 mg/ml vai pat augstāk. Papildus antimikrobai darbībai defensīni ir hemotakses faktori, imūnmodulējoši un citotoksiski aģenti, kas ir svarīgi organisma kopējās aizsardzības nodrošināšanai un iekaisuma procesu attīstībā. Nesen tika atklāta dažu defensīnu antivīrusu darbība. Tie piedalās CD8 antivīrusu darbības nodrošināšanā. Pierādīts, ka pacienti, kuriem trūkst alfa defensīnu (specifisko granulā nepietiekamības sindroms), cieš no biežām un smagām bakteriālām infekcijām.

Beta defensīni sākumā tika atklāti elpceļu epitēlija šūnās. Pirms neilga laika tika aprakstīti deviņi cilvēka epitēliālo defensīnu veidi, no kuriem trīs minēja kā beta defensīnus (1–3). Beta defensīnu-1 (hBD-1) cilvēka audi izdala pastāvīgi, bet hBD-2 un hBD-3 tiek ražoti pēc peptīdu indukcijas un tos uzskata par nepārprotamu iedzimtās imunitātes gļotādu antimikrobās imunitātes sastāvdaļu [Yamasaki, 2008].

Citi autori savās publikācijās apraksta arī ceturto beta defensīnu – cilvēka beta defensīnu-4 (hBD-4). hBD-4 ekspresija ir noteikta *testis* audos, kuņģī, dzemdē, neitrofilos, vairogdziedzerī, plaušās un nierēs. hBD-4 ekspresija palielinās pie gram-pozitīvu un gram-negatīvu baktēriju un *Candida* infekcijām elpošanas trakta epitēliālās šūnās. hBD-4 piemīt monocītu hemoatraktanta loma [García, 2001].

Ir dažādas AMP attiecības arī ādas slimību gadījumos. Tā psoriāzes skartā ādā palielinātā daudzumā konstatē katelicidīnu un β -defensīnus, bet pie atopiskā dermatīta tie ir samazināti. *Rosacea* skartā ādā ir ļoti liela katelicidīna ekspresija. Svaigās brūcēs arī ir daudz AMP. Katelicidīnu un β defensīnus atrod samazinātā daudzumā hroniskās brūcēs un apdegumu dēļ cietušā ādā.

Salīdzinot cilvēka beta defensīna daudzumu psoriāzes skartā, *tinea pedis* un normālā ādā, tika atrasts, ka sausā hBD-2 masa normālā ādā ir 0,09 (ng/mg), psoriātiskā ādā – 12,7 un *tinea pedis* zvīņās – 0,31. No vienas puses, šie dati liecina, ka dermatofītu infekcija varētu būt kā

izraisītājfaktors, kas rada hBD-2 akumulāciju *stratum corneum*. No otras puses, ir arī dati, kas liecina, ka hBD-2 ir samazinātā daudzumā atopiskā dermatīta un apdeguma skartā ādā – situācijās, kad āda ir pakļauta nozīmīgai baktēriju un sēnīšu ietekmei. Tādēļ iespējams, ka hBD piemīt profilaktisks antiseptisks efekts [Rodrigues, 2009].

Tinea corporis – infekcija, kas saistāma ar nozīmīgām izmaiņām epidermā. Pacienti ar *tinea corporis*, ko izsauca *Trichophyton rubrum*, ir traucēta ādas barjerfunkcija, kas izpaužas ar nozīmīgu transepidermālu ūdens zudumu un specifiskām ultrastruktūras izmaiņām. Šiem pacientiem tika atklāta arī nozīmīga hBD-2 proteīna ekspresija, kas varētu būt saistīta ar traucētu epidermas diferenciāciju un iekaisumu. hBD-2 darbojas pret *Trichophyton rubrum* [Jensen, 2007].

Iespējams, ka līdzīgi iedzimtās imunitātes procesi notiek arī onihomikozes skartos nagos. Keratinocīti cīņai pret patogēnām sēnītēm varētu izstrādāt antimikrobos peptīdus, kaut gan līdz šim cilvēka nagos tika atrasti tikai tādi antimikrobie peptīdi kā katelīdīni [Dorschner, 2004].

Jāpiebilst, ka pie nagu dabīgās imunitātes pieder naga plātnītes sabiezēšana nelabvēlīgos apstākļos un šādas izmaiņas ir raksturīgas arī onihomikozes gadījumā. Var teikt, ka onihomikozes skartā naga vienība morfoloģiski būtiski atšķiras no veselas naga plātnītes, kad vēro normālās pārragošanās traucējumus, sēņu elementu ieslēgumus, atsevišķos gadījumos arī limfocītu infiltrāciju [Stewart, 2012]. Savukārt patogēno sēnīšu radītās intensīvās pārmaiņas slimos nagos varētu pavadīt arī iekaisuma citokīnu izdale un asinsvadu paplašināšanās, iespējams, neoangioģenēze. Pie tik intensīvām pārmaiņām audos vērojami arī audu restrukturizācijas procesi, bet masīvs infekcijas perēklis audos palaiž šūnu programmēto nāvi un visu minēto pavada pārmaiņas naga funkcionālās vienības antimikrobiālajā aizsardzības sistēmā. Iepriekšminētais nosaka, ka nepieciešama kompleksa dažādu naga veselību ietekmējošo / regulējošo faktoru izpēte.

2. MATERIĀLS UN METODES

2.1. Pētāmais materiāls

2.1.1. Pētāmie audi

Šo pētījumu var raksturot kā aprakstošu, tika pētītas divas audu grupas:

1. onihomikozes skartu pacientu nagu audi;
2. nosacīti veselu (bez onihomikozes) no citām, nagus neietekmējošām, slimībām mirušu cilvēku nagu audi.

Pētījuma datu iegūšanai tika izmantots 30 onihomikozes pacientu slimu nagu biopsiju materiāls. Nagu punktveida (*punch*) biopsijas tika veiktas pacientiem standarta procedūras veidā, izmantojot “divu *punch*” metodi – 5 un 3 mm lielus bioptātus (sk. pielikumu) SIA “J. Ķīsis” diagnostiskos nolūkos:

1. veicot psoriāzes / onihomikozes diferenciāldiagnozi, t. i., gadījumos, kad redzēja tikai klīniski izmainītus nagus bez tipiskām psoriāzes pazīmēm uz ādas;
2. gadījumos, kad tipiskas onihomikozes klīnikas ainas apstākļos vēroja negatīvus mikroskopijas / uzsējuma rezultātus, lai apstiprinātu diagnozi.

Kopumā naga biopsija tika veikta 40 pacientiem, bet 10 no viņiem diagnoze izrādījās *psoriasis*, nevis *onychomycosis*.

Visi pacienti bija iepazinušies un parakstījuši piekrišanas formu biopsijas procedūrai un savai dalībai pētījumā (sk. pielikumu). Materiāla iegūšanas procesā netika nodarīts kaitējums pacientu veselībai.

Materiāls iegūts laikposmā no 2012. līdz 2014. gadam. Pētījums tika veikts saskaņā ar RSU Ētikas komisijas atļauju (26.01.2012) (sk. pielikumu).

Kontrolei tika izmantots līķu nagu materiāls. Pieci nagu paraugi tika iegūti standarta nekropsijas procedūras veidā RAKUS struktūrvienībā SIA “Valsts Patoloģijas centrs” 2013. gadā.

2.1.2. Onihomikozes pacienti

Grupā atlasītie pacienti bija abu dzimumu, vecumā no 31 līdz 87 gadiem ar iepriekš klīniski un mikroskopiski (KOH tests) / bakterioloģiski (uzsējums) apstiprinātu diagnozi *onychomycosis*. Onihomikozes klīniskā smaguma pakāpe tika noteikta ar onihomikozes klīniskā smaguma indeksa metodi (*the Scoring Clinical Index for Onychomycosis*, 2002), vienai pacientei indekss bija 6, bet pārējiem 12–30, kas atbilst smagai onihomikozei, kas jāārstē ar iekšējo terapiju (sk. 2.1. tab.).

Pacientu anamnēzē tika izslēgti šādi faktori:

- 1) citas naga stāvokli ietekmējošas sistēmiskas slimības – psoriāze, plakanā sarkanā mezgliņēde, kas tiek noteiktas histoloģiski;
- 2) iekšējo pretspēnu līdzekļu lietošana pēdējā pusgada laikā;
- 3) sistēmisko antibakteriālo līdzekļu lietošana pēdējā mēneša laikā;
- 4) ilgstoša atrašanās saulē pēdējā mēneša laikā.

2.1. tabula

Onihomikozes pacientu klīniskie dati

Pac.	Dzimums	Vecums (gados)	SCIO	KOH tests	Uzsējuma rezultāts	Diagnoze
1.	siev.	31	13	+	negatīvs	onihomikoze
2.	siev.	31	13	+	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	onihomikoze
3.	vīr.	35	20	+	<i>Trychophyton sp.</i>	onihomikoze
4.	siev.	36	30	+	<i>Aspergillus fumigatus</i>	onihomikoze
5.	siev.	37	6	+	nebija	onihomikoze
6.	siev.	39	20	+	negatīvs	onihomikoze
7.	vīr.	41	20	+	nebija	onihomikoze
8.	siev.	46	30	+	<i>Malassezia furfur</i>	onihomikoze

Pac.	Dzimums	Vecums (gados)	SCIO	KOH tests	Uzsējuma rezultāts	Diagnoze
9.	siev.	49	20	–	Negatīvs (PAS pozitīvs)	onihomikoze
10.	siev.	49	20	+	<i>Trychophyton sp.</i>	onihomikoze
11.	vīr.	54	25	+	<i>Trychophyton sp.</i>	onihomikoze
12.	siev.	54	25	+	negatīvs	onihomikoze
13.	siev.	55	24	+	<i>Candida sp.</i>	onihomikoze
14.	vīr.	55	20	–	negatīvs (PAS pozitīvs)	onihomikoze
15.	siev.	56	25	+	<i>Trychophyton rubrum</i>	onihomikoze
16.	vīr.	58	25	+	negatīvs	onihomikoze
17.	vīr.	61	16	+	nebija	onihomikoze
18.	vīr.	61	30	+	nebija	onihomikoze
19.	siev.	63	16	+	<i>Candida sp.</i>	onihomikoze
20.	siev.	63	24	+	<i>Candida sp.</i>	onihomikoze
21.	vīr.	65	20	+	nebija	onihomikoze
22.	vīr.	67	24	+	negatīvs	onihomikoze
23.	siev.	67	30	+	nebija	onihomikoze
24.	siev.	69	12	+	<i>Trychophyton sp.</i>	onihomikoze
25.	siev.	71	28	–	<i>Trychophyton rubrum</i> (PAS pozitīvs)	onihomikoze
26.	vīr.	73	28	+	<i>Trychophyton sp.</i>	onihomikoze
27.	siev.	73	30	+	nebija	onihomikoze
28.	vīr.	77	24	+	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	onihomikoze
29.	vīr.	81	30	+	nebija	onihomikoze
30.	vīr.	87	30	+	nebija	onihomikoze

Saīsinājumi: pac. – pacients; vīr. – vīrietis; siev. – sieviete; SCIO – klīniskais onihomikozes indekss; KOH – kālija hidroksīda tests; + – pozitīvs KOH tests; – – negatīvs KOH tests

2.1.3. Kontroles materiāls

Kontrolei tika izmantots piecu līķu nagu materiāls. Mirušie bija vecumā no 36 līdz 57 gadiem, abu dzimumu, bez klīniskām kāju vai roku nagu izmaiņām.

Grupas atlases kritēriji bija šādi:

- 1) nāves iemesls nebija infekcija;
- 2) anamnēzē nebija datu par hroniskām infekcijas slimībām;
- 3) pacients pirms nāves nebija saņēmis antibiotiku kursu;
- 4) pacientam nav redzamu pazīmju, kas liecinātu par viņa ilgstošu atrašanos saulē (iedegums);
- 5) pacientam nebija acīm redzamu sistēmisko saslimšanu pazīmju, kā arī tādi dati netika atrasti anamnēzē.

Visus mirušo pacientu datus var apskatīt 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Informācija par līķu nagu materiālu

Nr. p.k.	Dzimums	Vecums	Nāves iemesls	Blakusslimības	Onihomikozes klīniskās pazīmes
1.	Vīr	36	plaušu artērijas trombembolija	<i>femur</i> kakliņa lūzums	nav
2.	siev.	44	aknu ciroze	alkohola atkarība	nav
3.	vīr.	49	miokarda infarkts	išēmiska kardiomiopātija	nav
4.	vīr.	56	miokarda infarkts	koronārā sirds slimība	nav
5.	vīr.	57	zarnu tromboze	alkohola atkarība	nav

Saīsinājumi: vīr. – vīrietis; siev. – sieviete

2.2. Morfoloģiskās metodes

2.2.1. Audu fiksācija un rutīnās krāsošanas metodes

Audu fiksācija uz 24 stundām tika veikta SIA “J. Ķīsis” uzreiz pēc ķirurģiskās manipulācijas – naga biopsijas. Šim nolūkam tika izmantots piesātināts Stefanini šķīdums (2% formaldehīda un 0,2% pikrīnskābes 0,1 M fosfātbuferī pH 7,2). Pēc fiksācijas audu gabaliņus nogādāja RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas katedrā, kur pēc apstrādes spirtos pieaugošā secībā un ksilolos paraugus iegremdēja parafinā.

No katra pacienta biopsijas laikā iegūtā audu materiāla tika sagatavoti 3–4 µm biezi griezumi, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu [Lillie,1976; Avwioro, 2011]. Nokrāsotie preparāti tika analizēti, izmantojot gaismas mikroskopijas tehniku, lietojot *Leica DM RB* (Vācija) mikroskopu. Histoloģiskā aina tika analizēta, izmantojot *Leica microsystem AG* (Vācija) digitālo kameru.

Pārskata griezumos visi preparāti tika vērtēti pēc šādiem kritērijiem:

- ir vai nav naga plātnītes hipertrofija – naga plātnītes sabiezējums;
- ir vai nav akantoze – naga gultnes dzeloņainā slāņa hiperplāzija (šūnu skaita palielināšanās);
- ir vai nav parakeratoze – kodolaino šūnu klāsteri (grupējumi) raga slānī (plātnītē);
- ir vai nav hipergranuloze – granulozā slāņa šūnu hiperplāzija (šūnu skaita palielināšanās), šūnu rindu skaits četri un augstāks;
- ir vai nav epitelocītu vakuolārs bojājums – parenhimatozs bojājums, ko raksturo šūnu struktūras pārmaiņas;
- ir vai nav gultnes šūnu pericelulāra tūska;
- ir vai nav ieslēgumi – amorfas, blīvas struktūras raga slānī;
- kāds ir kolagēno šķiedru raksturojums – hipo-, normo- vai hipertrofiskas;
- kāda ir dermas vaskularizācija salīdzinājumā ar kontroles grupu;
- fibrocītu skaits naga saistaudu daļā vienā redzes laukā.

Lai novērtētu parakeratozes un akantozes izteiktības pakāpi, ieslēgumu daudzumu, vakuolāra bojājuma un pericelulāras tūskas izplatību preparātā un varētu šos datus apstrādāt statistiski, tika pielietota šāda mūsu izstrādāta novērtējuma shēma:

- 1 – nav pazīmes
- 2 – sīkperēkļaina izplatība (< 10%)
- 3 – lielperēkļaina izplatība (< 50%, lielāka nekā 10%)
- 4 – totāla izplatība (> 55%)

Hiperkeratozes raksturošanai izmantoja vienkāršāku shēmu:

- 1 – ir
- 2 – nav

Granulozes raksturošanai izvēlējās:

- 1 – hipo-
- 2 – normo-
- 3 – hiper-

2.2.2. Periodiskas skābes *Schiff* reakcija

Periodiska skābes *Schiff* (PAS) reakcija ļauj noteikt audos glikoproteīnus, polisaharīdus, dažus mukopolisaharīdus, glikolipīdus un taukskābes [MsManus,1946].

Deparafinizētus un dehidratētus audu griezumus preparātus iegremdēja 0,5% jodskābes šķīdumā uz 10 minūtēm, pēc tam tos skaloja destilētā ūdenī. Liekais ūdens tika savākts ar filtrpapīru, un uz 20 minūtēm preparātus ievietoja līdz 4°C temperatūrai atdzesētā *Schiff* reaktīvā, pēc tam preparātus skaloja ar destilētu ūdeni. Trešo reaģentu (*Potassium metabisulphite*) pievienoja uz 2 minūtēm. To nenomazgāja, bet izžāvēja, pēc tam uz 2 minūtēm pielika ceturto reaģentu – fiksatoru. Preparātus skaloja destilētā ūdenī. *Mayer's Hemalum* šķīdumu atstāja uz 3 minūtēm kodolu diferencēšanai, pēc tam griezumus skaloja krāna ūdenī 5 minūtes. Pēc tam preparātus dehidratēja caur spirtiem pieaugošā secībā, griezumus ievietoja ksilolā un ieslēdza histoloģiskā līmē.

2.2.3. Biotīna streptavidīna imūnhistoķīmijas metode un reaktīvi

Imūnhistoķīmijas analīzei tika izmantota biotīna streptavidīna metode [Hsu, 1981]. Deparafinizēti paraugi tika ievietoti turētājā, ko ievietoja konteinerā ar EDTA buferi (DIAPATH, LOT 0713311). Konteineru ar paraugiem uz 20 minūtēm ievietoja mikroviļņu krāsnī, pēc tam

izņēma no krāsns, atdzesēja, pēc tam ievietoja mazgāšanas buferī divas reizes pa 5 minūtēm. 10 minūtes tika veikta bloķēšana ar peroksidāzi, pēc tam divas reizes pa 5 minūtēm tika veikta skalošana ar TRIS buferi (DIAPATH, LOT 0713513). Pēc tam 30 minūtes audi tika apstrādāti ar primārām antivielām un divas reizes pa 5 minūtēm tika veikta mazgāšana TRIS buferī. 30 minūtes tika izmantots *En Vision* (Dako, Dānija) vai *Immuno Cruz SC-2053* (ASV) krāsojošais komplekss. Tika lietots hromogēns diaminobenzidīns (DAB), kuru noskaloja, un griezumus kontrastēja 2 minūtes ar hematoksilīnu. Par imūnpozitīvām uzskatīja struktūras, kas diaminobenzidīna (DAB) ietekmē iekrāsojās brūnas. Antivielas, kas tika izmantotas defensīnu, citokīnu un citu faktoru imūnhistoloģiskai noteikšanai, ir aprakstītas 2.3. tabulā.

2.3. tabula

Pētījumā izmantotās antivielas

Faktors	Kods	No kā iegūts	Darba atšķaidījums	Ražotājs
hBD-2	AF2758	kazas, poliklonālas	1 : 100	<i>R & D systems</i> , Mineapole, ASV
hBD-3	NB200-117	truša, poliklonālas	1 : 1000	<i>Novus Biologicals</i> , Litltona, ASV
hBD-4	(L13-10-D1): sc-59496	peles, monoklonālas	1 : 100	<i>Santa Cruz Biotechnology</i> , Dalasa, ASV
IL-1	(B-7): sc9983	peles, monoklonālas	1 : 50	<i>Santa Cruz Biotechnology</i> , Dalasa, ASV
IL-6	NYRhIL6	peles, monoklonālas	1 : 50	<i>Santa Cruz Biotechnology</i> , Dalasa, ASV
IL-10	ab34843	truša, poliklonālas	1 : 400	<i>Abcam</i> , Kembridža, Lielbritānija
PGP 9,5	Z511601	truša, poliklonālas	1 : 600	<i>DAKOCytomation</i> , Glostrupa, Dānija
VEGF	SC-7269	peles, monoklonālas	1 : 50	<i>Santa Cruz Biotechnology</i> , Dalasa, ASV
MMP-2	AF902	kazas, poliklonālas	1 : 100	<i>R&D Systems</i> , Mineapole, ASV

Saīsinājumi: hBD-2 – cilvēka beta defensīns-2; hBD-3 – cilvēka beta defensīns-3; hBD4 – cilvēka beta defensīns-4; IL-1 – interleikīns-1; IL-6 – interleikīns-6; IL-10 – interleikīns-10; PGP9,5 – proteīna gēna produkts 9,5; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; MMP-2 – matricē metaloproteināze-2

Katrai preparātu sērijai tika pagatavotas pozitīvās kontroles (audi, kuros vienmēr ir pozitīva reakcija, piemēram, plaušas, zarnas, mandeles, *colon* vēzis, olnīcu vēzis) un negatīvās kontroles paraugi (negatīva reakcija, kad nepilina primāro antivielu). Nokrāsotie preparāti tika analizēti, izmantojot gaismas mikroskopijas tehniku, respektīvi, *Leica DM RB* (Vācija)

mikroskopu, pēc tam apstrādāti ar programmu *Image Pro Plus* videoattēlu analizatoru sistēmā. Histoloģiskā aina tika fiksēta ar *Leica Microsystem AG* (Vācija) digitālo kameru.

2.2.4. TUNEL metode

Apoptozes noteikšanai tika izmantots standartizēts tehnikas komplekts *In Citu Cell Death Detection, POD Cat. No. 11684817910 Roche Diagnostics* [Negoescu et al., 1998]. Deparafinizētie audu paraugi 10 minūtes tika turēti TRIS buferšķīdumā. Pēc tam 30 minūšu laikā ar 3% ūdeņraža peroksīdu tika bloķēta endogēnās peroksidāzes aktivitāte un paraugi trīs reizes 5 minūšu laikā tika skaloti TRIS buferšķīdumā. Audu griezumi tika ievietoti EDTA buferšķīdumā, pēc tam uz 10 minūtēm ielikti mikroviļņu krāsnī (lai atmaskotu antigēnu), bet vēlāk preparātus istabas temperatūrā atdzesēja. Atdzesētos preparātus trīs reizes pa 5 minūtēm mazgāja TRIS buferšķīdumā.

Kontroles preparātu griezumus pārklāja ar DNaseI uz 10 minūtēm un nomazgāja PBS šķīdumā.

Preparāti tika mazgāti TRIS buferšķīdumā un uz 10 minūtēm ievietoti 0,1 % govs seruma albumīna fosfāta buferšķīdumā.

Audu griezumus 60 minūtes 37°C temperatūrā inkubēja ar TUNEL reaģentu. Pēc tam divas reizes pa 5 minūtēm skaloja TRIS buferšķīdumā un 37°C temperatūrā inkubēja 30 minūtes ilgi ar POD (satur mārrutku peroksidāzi). Pēc divkārtas skalošanas pa 5 minūtēm TRIS buferšķīdumā griezumus uz 7 minūtēm pārklāja ar diamonobenzidīna (DAB) homogēnu šķīdumu peroksidāzes noteikšanai, tad 5 minūtes skaloja destilētā ūdenī.

Kontrasta krāsošanai izmantoja hematoksilīnu.

2.3. Datu apstrādes metodes

2.3.1. Puskvantitatīvā metode

Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai tika lietota puskvantitatīvās skaitīšanas metode [Tobin, *et al.*, 1990; Pilmane, *et al.*, 1998; Pilmane, *et al.*, 1999]. Struktūru daudzums tika analizēts nejauši izvēlētos viena griezuma piecos redzes laukos. Turpmākai analizēšanai tika ņemts vidējais struktūru daudzums.

Puskvantitatīvai metodei tika izmantoti 2.4. tabulā dotie apzīmējumi.

2.4. tabula

Puskvantitatīvās metodes apzīmējumi

Apzīmējums	Skaidrojums
0	redzes laukā netika redzēta neviens pozitīva struktūra
0 / +	redzes laukā retas pozitīvas struktūras
+	redzes laukā maz pozitīvu struktūru
++	redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru
+++	redzes laukā daudz pozitīvu struktūru
++++	redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru

Izmantojot TUNEL metodi, nejauši tika izvēlēti pieci redzes lauki, kuros no 100 redzamām šūnām tika skaitītas pozitīvās apoptotiskās šūnas (pozitīvais krāsojums kodolos). Tika noteikts arī apoptotiskais indekss [Itoh, *et al.*, 2001].

2.3.2. Statistiskās datu apstrādes metodes

Pētījuma grupu vispārīgai raksturošanai tika lietotas vispārpieņemtās aprakstošās statistikas metodes [Altman, 2000; Teibe and Berkis, 2001]. Pētāmo audu paraugu skaits bija neliels, tāpēc statistiskai apstrādei tika izvēlētas neparametriskās statistikas metodes. Tās nebalstās uz parametru novērtējumiem, piemēram, vidējās vērtības vai standartnovirzes aprēķinu, kas raksturotu pētāmā lieluma sadalījumu ģenerālkopā. Pielietojot plaši izmantotās metodes, piemēram, dispersiju analīzi un t-testu, papildu ierobežojums ir izvēlēta mērvienību skala. Normāli sadalītiem mainīgiem mērvienības ir skalāri lielumi, kas dod iespēju salīdzināt to

vērtības ne tikai ar lielāks vai mazāks, bet arī par cik lielāks vai mazāks. Šajā pētījumā mērvienības ir kārtas skaitļi, kas ļauj secināt, kāda īpašība piemīt lielākā vai mazākā mērā, nevis par cik viena pazīme lielākā mērā piemīt kādam novērojumam.

Atbilstīgi pētījuma konstrukcijai tika aplūkoti neparametriskie testi, lai pārbaudītu atšķirības starp neatkarīgām grupām: kontroles grupu un pētāmo grupu. Ja lielā izlasē vajadzētu novērtēt, vai statistiski ir nozīmīga kādu interesējošo vidējo vērtību starpība, tad varētu izmantot t-testu neatkarīgām izlasēm. Šajā pētījumā tas nav izmantojams, jo novērojumu skaits grupās ir mazs: kontroles grupā 5, pacienti – 30. Neparametriskā t-testa alternatīva ir Manna–Vitnija U tests (angļu val. *the Mann-Whitney U test*), Valda–Vulfovica skrējienus tests (angļu val. *the Wald-Wolfowitz runs test*) un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (angļu val. *the Kolmogorov-Smirnov two-sample test*) [Mitchell, 1986; Neely, 2003].

Katram no neparametriskiem testiem ir atšķirīgs jutīgums pret dažādiem blakus nosacījumiem. Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests un Valda–Vulfovica skrējienus testi ir jutīgi pret sadalījuma atšķirībām izlasēs, par kurām šajā pētījumā nav pietiekamas informācijas. Tāpēc šajā pētījumā tika izmantots Manna–Vitnija U tests. Tas tika izmantots, lai pārbaudītu, vai vērtību izvietojums divās izlasēs ir vienāds. Abu grupu novērojumi tika apvienoti un ranžēti, sasummējot rangus katrā no divām grupām atsevišķi un aprēķinot vidējo rangu katrai grupai. Ja abās grupās vērtību sadalījums ir līdzīgs, tad lielākiem un mazākiem rangiem vajadzētu būt vienmērīgi izvietotiem abās grupās, tādējādi arī vidējiem rangiem grupās vajadzētu būt līdzīgiem.

Lai izveidotu rangų skalas, puskvantitatīvās metodes rezultāti tika pārveidoti par cipariem. Datu pārveidošanas sistēma apskatīta 2.5. tabulā.

2.5. tabula

Puskvantitatīvās metodes rezultātu pārveide par cipariem

Puskvantitatīvā metode	Atšifrējums	Cipari
0	r.l. nav nevienas pozitīvas struktūras	1
0 / +	r.l. ļoti retas pozitīvas struktūras	2
+	r.l. maz pozitīvu struktūru	3
++	r.l. vidēji daudz pozitīvu struktūru	4
+++	r.l. daudz pozitīvu struktūru	5
++++	r.l. ļoti daudz pozitīvu struktūru	6

Saīsinājums: r.l. – redzes laukā

Datu analizēšanai izmantoja ticamības līmeni. Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p < 0,05$. Tas nozīmē, ka varbūtība pieļaut kļūdu, pieņemot nulles hipotēzi (lielumi grupās ir vienādi), ir 5%. Citiem vārdiem sakot, nulles hipotēzi patiesībā ir jānoraida. Ja ticamība ir $< 5\%$, tad varbūtība pieņemt nulles hipotēzi, proti, ka lielumi grupās ir vienādi, ir mazāka par 5%, t. i., hipotēzi par lielumu vienādību grupās var norādīt pie 5% ticamības līmeņa.

Aprēķiniem tika izmantota statistikas pakete SPSS 17 (*SPSS Inc. USA*).

Korelācijas koeficients ir divu vai vairāku mainīgu lielumu saistības ciešuma kvantitatīvs rādītājs. Pēc rangu skalas lielumiem tika aprēķināts t. s. Spīrmēna korelācijas koeficients un Kendala tau-b tests [*Christensen, 1996*]. Pētījumā kvalitatīvā saistība starp mainīgajiem, balstoties uz korelācijas koeficienta lielumu, tika novērtēta kā vāja, vidēja vai cieša [*Krastiņš, 1990*]. Korelācijas koeficienta sadalījums bija šāds: $r = 0-0,5$ – vāja, maznozīmīga korelācija; $r = 0,5-0,7$ – vidēja korelācija; $r = 0,7-0,9$ – cieša korelācija.

3. REZULTĀTI

3.1. Klīnisko datu raksturojums

Onihomikozes pacienti bija 17 sievietes un 13 vīrieši vecumā no 31 līdz 87 gadiem (vidējais onihomikozes pacienta vecums bija 55,8 gadi). Visiem pētījumā iesaistītajiem pacientiem bija tāds onihomikozes klīniskā smaguma indekss, kas paredz sistēmisko terapiju, t. i., minimālā vērtība – 6, maksimālā – 30 (vidējā vērtība – 22,56).

Aprēķinot pacientiem onihomikozes klīnisko indeksu, pētījumā netika iesaistīts neviens pacients ar SCIO vērtību 1–3, kas paredzētu tikai lokālo terapiju. Vienai 37 gadus vecai pacientei SCIO vērtība bija 6 (minimālā vērtība, kas paredz sistēmisko terapiju). 5 pacientiem SCIO vērtība bija 7–16 (obligāti nepieciešama sistēmiska terapija). Savukārt 7 pacientiem SCIO vērtība bija 17–20 (kombinētas terapijas nepieciešamība, ilgstošs kurss) un 17 pacientiem 21–30 (ilgstoša sistēmiska terapija, papildus ķirurģisko metožu pielietojums).

Klīniski katram pacientam bija vairāki izmainīti abu kāju nagi, vidēji 2–4, kuriem naga biezuma un krāsas maiņas skāra vairāk nekā 2/3 no naga plātnītes garuma. Visizteiktākās izmaiņas skāra lielo kāju pirkstu nagus (naga krāsa dzeltenbūna, zaļgana, plātnītes sabiezējums, oniholīze).

Mikroskopija (KOH tests) bija pozitīva 27 gadījumos. Septiņos gadījumos pacientiem uzsējumā izauga dermatofītu grupas sēnītes, četros gadījumos – rauga sēnītes un trīs gadījumos – pelējuma sēnītes, deviņos gadījumos pacientiem uzsējums netika veikts, bet septiņos gadījumos uzsējums izrādījās negatīvs (sk. 3.1. tab.).

3.1. tabula

Visu onihomikozes gadījumu ierosinātāju iedalījums pa mikožu grupām un onihomikozes klīniskā smaguma indekss

P.	Vecums	Dzimums	SCIO	Dermatofīti	Raugveida sēnītes	Pelējumi	Uzsējums
1.	31	siev.	13				nebija
2.	31	siev.	13			<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	
3.	35	vīr.	20	<i>Trychophyton spp.</i>			
4.	36	siev.	30			<i>Aspergillus fumigatus</i>	
5.	37	siev.	6				nebija

P.	Vecums	Dzimums	SCIO	Dermatofiti	Raugveida sēnītes	Pelējumi	Uzsējums
6.	39	siev.	20				negatīvs
7.	41	vīr.	20				nebija
8.	46	siev.	30		<i>Malassezia furfur</i>		
9.	49	siev.	20				negatīvs
10.	49	siev.	20	<i>Trychophyton spp.</i>			
11.	54	vīr.	25	<i>Trychophyton spp.</i>			
12.	54	siev.	25				negatīvs
13.	55	siev.	24		<i>Candida spp.</i>		
14.	55	vīr.	20				negatīvs
15.	56	siev.	25	<i>Trychophyton rubrum</i>			
16.	58	vīr.	25				negatīvs
17.	61	vīr.	16				nebija
18.	61	vīr.	30				nebija
19.	63	siev.	16		<i>Candida spp.</i>		
20.	63	siev.	24		<i>Candida spp.</i>		
21.	65	vīr.	20				nebija
22.	67	vīr.	24				negatīvs
23.	67	siev.	30				nebija
24.	69	siev.	12	<i>Trychophyton spp.</i>			
25.	71	siev.	28	<i>Trychophyton rubrum</i>			
26.	73	vīr.	28	<i>Trychophyton spp.</i>			
27.	73	siev.	30				nebija
28.	77	vīr.	24			<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	
29.	81	vīr.	30				nebija
30.	87	vīr.	30				nebija
Kopā:	65			7	4	3	16

Saīsinājumi: P. – pacienta numurs, SCIO – onihomikozes klīniskā smaguma indekss

3.2. Morfoloģijas dati

3.2.1. Rutīnas histoloģijas dati

Gandrīz visos preparātos bija labi redzamas visas trīs naga vienības struktūras: naga plātnīte, gultne un saistaudi (sk. pielikuma tabulu).

Tādējādi, izvērtējot pagatavoto preparātu pārskata griezumus, 18 onihomikozes gadījumos redzējām raga slāņa jeb naga plātnītes sabiezēšanu, kā arī vairākus (14) epidermas graudainā slāņa hipertrofijas fragmentus līdz 5–8 šūnu rindām (sk. 3.1. un 3.2. att. pielikumā). 12 gadījumos vēroja normogranulozi, un četros gadījumos granulozais epitēlija slānis bija pat reducēts. 29 preparātos naga plātnītes virspusējā un dziļākā slānī tika atrasti dažāda izmēra un formas parakeratozes perēkļi. Kopumā parakeratozi varēja novērtēt kā sīkperēkļainu 19 gadījumos, bet lielperēkļainu – 10 gadījumos. Parakeratozes fragmenti lielākoties bija atrodami kombinācijā ar homogēnas, eozinofilas masas ieslēgumiem (sk. 3.3. un 3.4. att. pielikumā). 11 preparātos šos ieslēgumus varēja raksturot kā sīkperēkļainus, bet 10 preparātos – pat lielperēkļainus.

Naga plātnītes parakeratozes fokusos vēroja ne tikai amorfos eozinofilos ieslēgumus, bet vairākos preparātos redzēja arī sēnīšu mikroorganismu elementus kā punktveida, homogēnas, bazofilas struktūras. Atsevišķos preparātos redzēja izteiktu naga gultnes atrofiju (sk. 3.5. att. pielikumā).

Akantoze bija novērojama tikai astoņos gadījumos, turklāt gan PAS pozitīvos, gan PAS negatīvos preparātos. Lielākajā daļā gadījumu akantoze bija lielperēkļaina.

Onihomikozes skarta naga gultnes šūnām redzēja arī vakuolāru jeb deģeneratīvu bojājumu un pericelulāru tūsku. Vakuolārs bojājums bija izteikts 16 gadījumos, bet pericelulāra tūska – 22 gadījumos.

Salīdzinājumā ar kontroles grupas preparātiem, onihomikozes skarto nagu saistaudu daļā vēroja asinsvadu hiperplāziju, tūsku, lielperēkļainu, kā arī atsevišķos gadījumos difūzu iekaisuma šūnu (limfocītu, plazmocītu, makrofāgu) infiltrāciju (sk. 3.6. att. pielikumā). Dažos preparātos subepidermāli redzēja arī neoangiogēnēzi (sk. 3.7. att. pielikumā). Kolagēnās šķiedras 12 gadījumos bija hipertrofiskas, bet sešos gadījumos – atrofiskas. Fibrocītu daudzums vienā redzes laukā variēja no 30 līdz 120.

Kontroles grupas nagos plātnītes sabiezēšanu, hipergranulozi vai akantozi nenovēroja. Amorfas vielas ieslēgumi netika atrasti. Granulozais slānis vienā gadījuma bija hipotrofisks, bet

pārējos gadījumos – normotrofisks. Trīs gadījumos redzēja gultnes šūnu deģeneratīvu bojājumu, un vienā preparātā bija arī pericelulāra tūska. Dermā vēroja retus, difūzi izsētus makrofāģus, redzēja retus, maza izmēra asinsvadus. Kopumā derma bija bez iekaisuma pazīmēm (sk. 3.8. un 3.9. att. pielikumā). Dermas kolagēnās šķiedras varēja raksturot kā normotrofiskas. Fibrocītu daudzums variēja no 35 līdz 50 redzes laukā. Asinsvadi netika konstatēti.

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tika izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.2. tab).

3.2. tabula

Morfoloģisko pazīmju korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Pazīme	N	Rangu vidējais rādītājs	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
Parakeratoze: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	3,50 20,42	2,500	0,000	2,001	0,001
Hipertrofija: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	12,00 19,00	45,000	0,101	0,828	0,499
Ieslēgumi: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	7,50 19,75	22,500	0,008	1,449	0,030
PAS: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	6,00 20,00	15,000	0,000	1,656	0,008
Granuloze: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	11,40 19,10	42,000	0,089	0,966	0,308
Akantoze: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	14,50 18,58	57,500	0,282	0,552	0,921
Epit. vakuol. boj.: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	18,70 17,88	71,500	0,851	0,138	1,000

Pazīme	N	Rangu vidējais rādītājs	Manna- Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova- Smirnova tests	p-vērtība
Pericel. tūska: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	8,80 19,53	29,000	0,021	1,104	0,175
Kolagēnās šķiedras: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	15,00 18,50	60,000	0,441	0,828	0,499
Vaskularizācija: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	4,50 20,25	7,500	0,001	1,863	0,002
Fibrocītu daudzums: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	7,70 19,72	23,500	0,015	1,518	0,020

*Saīsinājumi: epit. – epitēlija, vakuol. – vakuolārs, boj. – bojājums, pericel. – pericelulāra

Onihomikozes skartos nagos salīdzinājumā ar kontroles grupas nagiem **statistiski ticami** vairāk ir izteikta **parakeratoze, ieslēgumu daudzums, PAS pozitivitāte, vaskularizācija**, kā arī ir ievērojami lielāks **fibrocītu daudzums**.

3.2.2. Periodiskas skābes *Shiff* reakcijas dati

Kopumā PAS reakcija bija pozitīva 24 gadījumos. No tiem 21 preparātā naga plātnītē bija redzamas apaļīgas, homogēnas, eozinofīlas PAS pozitīvas struktūras (sk. 3.10 att. pielikumā), apkārt vairākiem PAS pozitīviem agregātiem redzēja naga plātnītes parakeratozes fragmentus (sk. 3.11. att. pielikumā). Negatīvas PAS reakcijas gadījumā ieslēgumus arī nenovēroja.

Visos PAS pozitīvos preparātos redzēja iegarenas formas sēnīšu kolonijas (sk. 3.12. att. pielikumā). Vairākos preparātos vienā redzes laukā novēroja gan diegveida sēnīšu kolonijas, gan arī homogēnos, apaļīgos PAS pozitīvos elementus, visticamāk, sporas (sk. 3.13. att. pielikumā), turklāt sēnīšu elementi bija dažādās attīstības stadijās: sporas un hifas.

Kontroles naga plātnītē PAS pozitīvos elementus nekonstatēja, gultne arī bija bez redzamas morfoloģijas (sk. 3.14. att. pielikumā).

3.3. Audu iekaisuma un remodelācijas marķieru dati

Reakcijas intensitāte dažādos preparātos variēja, tomēr lielākajā daļā preparātu vēroja izteiktu krāsojuma intensitāti.

Kopējie rezultāti atklāja galveno iekaisuma procesu norisi onihomikozes skarto nagu gultnē un dermas saistaudu daļā, kamēr kontroles nagu grupā pozitīvas reakcijas vēroja pārsvarā tikai naga gultnes daļā.

Izteikti pozitīvas reakcijas onihomikozes skarto nagu preparātos vēroja IL-6, IL-10 un MMP-2 gadījumos.

Reakcijās uz VEGF un PGP9,5 lielas atšķirības starp onihomikozes skarto un kontroles nagu grupu neredzēja.

Datu apkopojumu par visām reakcijām onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos var apskatīt 3.3. tabulā.

3.3. tabula

Citokīnu, deģenerācijas enzīmu, asinsrites un inervāciju raksturojošo faktoru relatīvā daudzuma pārskats onihomikozes skartos un kontroles nagos

Reakcija	Onihomikozes skarti nagi (n = 30)			Kontroles grupas nagi (n = 5)		
	Gultne	Saistaudi	Plātnīte	Gultne	Saistaudi	Plātnīte
IL-1	0	0	0	+ / ++	0 / +	0 / +
IL-6	++ / +++	+ / ++	+	+	0 / +	0 / +
IL-10	+ / ++	+	+	++	+	0 / +
MMP-2	+ / ++	+ / ++	+	+	0	0 / +
VEGF		+			0	
PGP9,5	+	+	0	+ / ++	+	0 / +

Apzīmējumi: 0 – redzes laukā nav nevienas pozitīvas struktūras; 0 / + – redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + – redzes laukā maz pozitīvu struktūru; ++ – redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++ – redzes laukā daudz pozitīvu struktūru

Saīsinājumi: IL-1 –interleikīns-1; IL-6 – interleikīns-6; IL-10 – interleikīns-10; MMP-2 – matrices metaloproteināze-2; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; PGP9,5 – proteīna gēna produkts 9,5

3.3.1. Interleikīns-1

IL-1 netika konstatēts onihomikozes nagu grupā nevienā no naga vienības daļām (sk. 3.15. att. pielikumā). Kontroles grupā maz līdz vidēji daudz IL-1pozitīvo struktūru tika atrasts naga gultnē, bet saistaudos un naga plātnīte konstatēja tikai dažas pozitīvas struktūras redzes laukā (sk. 3.16. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tika izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.4. tab.).

3.4. tabula

IL-1 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
IL-1 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	31 15,83	155,00 475,00	10,000	0,000	1,794	0,000
IL-1 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	28,60 16,23	143,00 487,00	22,000	0,002	1,449	0,003
IL-1 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	20,50 17,58	102,50 527,50	62,500	0,269	0,345	0,269

Saīsinājums: IL-1 –interleikīns-1

Abi testi apstiprināja, ka onihomikozes skartā naga gultnē un saistaudos esošo pozitīvo struktūru daudzuma starpības, salīdzinot ar to daudzumu kontroles nagos, **ir statistiski atšķirīgas**. Tātad IL-1 pozitīvas struktūras tika atrastas tikai kontroles grupas nagos.

3.3.2. Interleikīns-6

IL-6 saturošas šūnas onihomikozes skartos nagos tika atrastas nozīmīgā daudzumā. Gultnē konstatēja vidēji daudz līdz daudz IL-6 pozitīvo struktūru redzes laukā (sk. 3.17. att. pielikumā). Saistaudos redzēja maz līdz vidēji daudz pozitīvo struktūru (izteikti pozitīvas struktūras bija redzamas dermas asinsvadu sienīnās), bet naga plātnītes daļā konstatēja maz pozitīvu struktūru (sk. 3.18., 3.19. un 3.20. att. pielikumā).

Kontroles grupas nagiem maz IL-6 pozitīvu struktūru tika atrastas gultnes audos, pārsvarā fokālu perēkļu veidā, bet saistaudu un plātnītes daļā redzēja tikai atsevišķas pozitīvas struktūras redzes laukā (sk. 3.21. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupās, tika izmantotas neparametriskās t-testa alternatīvas: Manna – Vitnija U tests un Kolmogorova-Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.5. tab.).

3.5. tabula

IL-6 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
IL-6 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	9,70 19,38	48,50 581,50	33,500	0,046	1,173	0,060
IL-6 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	8,00 19,67	40,00 590,00	25,000	0,010	1,380	0,010
IL-6 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	19,00 17,83	95,00 535,83	70,000	0,803	0,690	0,367

Saīsinājums: IL-6 – interleikīns-6

Abi testi apstiprināja, ka onihomikozes skartā naga saistaudos esošo pozitīvo struktūru daudzuma starpības, salīdzinot ar to daudzumu kontroles nagos, **ir statistiski atšķirīgas**.

3.3.3. Interleikīns-10

Kopumā maz līdz vidēji daudz IL-10 pozitīvu struktūru onihomikozes skartos nagos atrada gultnes audos, atsevišķos preparātos redzēja pat lielu daudzumu IL-10 pozitīvo struktūru redzes laukā. Vienlaikus dažos preparātos vēroja arī totālu onihomikozes skarta naga gultnes šūnu IL-10 pozitīvu citoplazmas reakciju. Saistaudos un naga plātnītē IL-10 konstatēja mazos daudzumos (sk. 3.22., 3.23. un 3.24. att. pielikumā).

Kontroles grupas nagos IL-10 imūnreaktīvās struktūras gultnes audos tika atrastas maz līdz vidēji daudz, saistaudos – maz, bet naga plātnītē redzēja tikai atsevišķas pozitīvas struktūras (sk. 3.25. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tika izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.6. tab.).

3.6. tabula

IL-10 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
IL-10 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	27,10 16,48	135,50 494,50	29,500	0,021	0,828	0,158
IL-10 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	23,00 17,17	115,00 515,00	50,000	0,222	–0,133	0,163
IL-10 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	8,90 19,52	44,50 585,50	29,500	0,028	–0,433	0,188

Saīsinājums: IL-10 – interleikīns-10

Statistiski nozīmīga atšķirība tika atrasta tikai ar Manna–Vitnijatestu naga gultnē. Tātad kopumā **nevar apgalvot, ka starp kontroles un eksperimenta grupu pastāv atšķirība.**

3.3.4. Matrices metaloproteināze-2

MMP-2 onihomikozes skartos nagos tika konstatēta maz līdz vidēji daudz struktūrās naga gultnē un saistaudos (ļoti daudz struktūrās to konstatēja ādas derivātos un asinsvadu sienīņā). Plātnītē šādas struktūras konstatēja variablā skaitā (sk. 3.26.un 3.27 att. pielikumā).

Kontroles grupas nagos gultnē MMP-2 redzēja maz struktūrās, saistaudos enzīms vispār netika konstatēts, bet naga plātnītē to gandrīz neatrada, izņemot tikai atsevišķas pozitīvas struktūras (sk. 3.28 att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tiek izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.7. tab.).

3.7. tabula

MMP-2 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna- Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova– Smirnova tests	p-vērtība
MMP-2 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	17,50 18,08	87,50 542,50	72,500	0,983	0,345	0,861
MMP-2 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	4,50 20,25	22,50 607,50	7,500	0,000	1,863	0,000
MMP-2 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	11,40 19,10	57,00 573,00	42,000	0,098	1,242	0,032

Saīsinājums: MMP-2 – matrices metaloproteināze-2

Statistiski nozīmīga atšķirība starp MMP-2 pozitīvo struktūru daudzumu onihomikozes skartu un kontroles grupas naga audos (gultnē, saistaudos, plātnītē) abu testu gadījumā tika **atrasta tikai naga saistaudos**.

3.3.5. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

VEGF tika apskatīts tikai naga saistaudu daļā. Onihomikozes skartos nagos VEGF pozitīvas struktūras tika atrastas daudz (sk. 3.29. att. pielikumā), bet kontroles grupas nagos VEGF pozitīvas struktūras netika atrastas (sk. 3.30. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tiek izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.8. tab.).

3.8. tabula

VEGF saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
VEGF saistaudos:							
kontroles grupa	5	7,50	37,50	22,500	0,010	1,449	0,008
onihomikozes grupa	30	19,75	592,50				
kopā	35						

Saīsinājums: VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

Abi testi apstiprina, ka **starpība** starp VEGF saturošo struktūru daudzumu onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos **ir statistiski atšķirīga**.

3.3.6. Neuropeptīdus saturošās inervācijas marķieris PGP9,5

Maz PGP9,5 pozitīvas struktūras onihomikozes skartos nagos tika atrastas naga gultnes un saistaudu daļā (sk. 3.31. un 3.32. att. pielikumā). Tomēr dažos preparātos vēroja arī vidēji daudz līdz daudz PGP9,5 pozitīvo struktūru (sk. 3.33. un 3.34. att. pielikumā). Savukārt naga plātnītē tās netika konstatētas.

Kontroles grupas nagos maz līdz vidēji daudz PGP9,5 pozitīvu struktūru tika atrastas naga gultnē. Saistaudos PGP9,5 tika konstatēts mazā struktūru daudzumā (sk. 3.35. att.), bet naga plātnītē redzēja tikai dažas pozitīvas struktūras.

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tiek izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.9. tab).

3.9. tabula

PGP9,5 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna-Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova-Smirnova tests	p-vērtība
PGP9,5 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	27,30 16,45	136,50 493,50	28,500	0,021	1,035	0,075
PGP9,5 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	20,70 17,55	103,50 526,50	61,500	0,546	0,345	0,865
PGP9,5 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	21,00 17,50	105,00 525,00	60,000	0,143	0,414	0,143

Saīsinājums: PGP9,5 – proteīna gēna produkts 9,5

Pētot naga **gultni**, PGP9,5 pozitīvo struktūru daudzuma ziņā pēc Manna–Vitnija testa starpība bija statistiski nozīmīga pie 5% ticamības līmeņa. Veicot Kolmogorova–Smirnova testu, šī starpība bija **statistiski nozīmīga tikai pie 10% ticamības līmeņa**. Naga **saistaudu un naga plātnītes** gadījumos novērojamo struktūru daudzums **nebija statistiski atšķirīgs**. Tas nozīmē, ka, visticamāk, PGP9,5 gadījumā statistiskā atšķirība starp onihomikozes skartu nagu un kontroles grupas nagu nav atrodama.

3.3.7. Apoptoze

Analizējot apoptotisko šūnu skaitu naga gultnes audos, tika konstatēts, ka onihomikozes skartos nagos AI vidēji bija 49% (sk. 3.36., 3.37. un 3.38. att. pielikumā), bet kontroles grupas nagos 18% (sk. 3.39. att. pielikumā). Onihomikozes pacientu grupā AI svārstījās no 12 līdz 79% apoptotisko šūnu redzes laukā. Kontroles grupā vēroja 11–27% apoptotisko šūnu redzes laukā (sk. 3.10. tab.).

3.10. tabula

Informācija par onihomikozes ierosinātāju, klīnisko onihomikozes indeksu un apoptozes indeksu

Pac. nr.	Dzimums	Vecums	SCIO	Ierosinātais Uzņēmums	AI
1.	siev.	31	13	Negatīvs	12
2.	siev.	31	13	Nebija	45
3.	vīr.	35	20	Nebija	40
4.	siev.	36	30	Nebija	60
5.	siev.	37	5	<i>Trychophyton rubrum</i>	61
6.	siev.	39	20	Nebija	44
7.	vīr.	41	20	<i>Candida sp.</i>	63
8.	siev.	46	30	<i>Trychophyton sp.</i>	15
9.	siev.	49	20	Negatīvs	59
10.	siev.	49	20	Nebija	18
11.	vīr.	54	25	Nebija	30
12.	siev.	54	25	<i>Candida sp.</i>	57
13.	vīr.	55	20	Negatīvs	50
14.	siev.	55	24	<i>Candida sp.</i>	61
15.	siev.	56	25	Nebija	46
16.	vīr.	58	25	Nebija	18
17.	vīr.	61	30	<i>Trychophyton sp.</i>	25
18.	vīr.	61	16	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	71

Pac. nr.	Dzimums	Vecums	SCIO	Ierosinātais Uzņēmums	AI
19.	siev.	63	16	<i>Trychophyton sp.</i>	45
20.	siev.	63	24	<i>Trychophyton sp.</i>	48
21.	vīr.	65	20	Negatīvs	69
22.	siev.	67	30	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	21
23.	vīr.	67	24	Negatīvs	63
24.	siev.	69	12	<i>Aspergillus fumigates</i>	34
25.	siev.	71	28	<i>Trychophyton rubrum</i>	55
26.	vīr.	73	28	Negatīvs	54
27.	siev.	73	30	<i>Trychophyton sp.</i>	32
28.	vīr.	77	24	<i>Malassezia furfur</i>	79
29.	vīr.	81	30	Nebija	9
30.	vīr.	87	30	Negatīvs	77

Saīsinājumi: vīr. – vīrietis; siev. – sieviete; SCIO – klīniskais onihomikozes indekss; AI – apoptozes indekss

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tika izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.11. tabulu).

3.11. tabula

TUNEL rezultātu statistiskā apstrāde

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
AI gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	6,70 19,88	33,50 596,50	18,500	0,005	1,587	0,005

Saīsinājums: AI – apoptozes indekss

Abi testi apstiprināja, ka starpība starp apoptotisko šūnu daudzumu onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos **ir statistiski atšķirīga**. Tas nozīmē, ka apoptozes procesi ir vairāk izteikti onihomikozes skartos nagos.

3.4. Dati par antimikrobiem peptīdiem

Reakcijas intensitāte dažādos preparātos variēja, tomēr lielākajā preparātu daļā vēroja izteiktu krāsas intensitāti.

Kopējie rezultāti atklāja pārliecinošu hBD-2 daudzumu onihomikozes skartos nagos salīdzinājumā ar šī defensīna daudzumu kontroles grupas nagos. Visvairāk hBD-2 pozitīvo struktūru atrada tieši onihomikozes skarto nagu gultnes un saistaudu daļā, tomēr arī plātnītē tas tika konstatēts nelielā struktūru daudzumā. Kontroles grupas nagos hBD-2 tika atrasts gan gultnes, gan plātnītes daļā, taču nelielā struktūru skaitā.

hBD-3 tika atrasts gan onihomikozes skartos, gan arī kontroles grupas nagos, tomēr tikai ļoti retās pozitīvās struktūrās.

Tikai retas hBD-4 pozitīvas struktūras tika atrastas onihomikozes skarto nagu gultnes daļā. Kontroles grupā hBD-4 netika konstatēts.

Datu apkopojumu par visām reakcijām onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos var apskatīt 3.12. tabulā.

3.12. tabula

Beta defensīnu klātbūtne onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Defensīns	Onihomikozes skarti nagī (n = 30)			Kontroles grupas nagī (n = 5)		
	Gultne	Saistaudi	Plātnīte	Gultne	Saistaudi	Plātnīte
hBD-2	++ / +++	+ / ++	+	0 / +	0	0 / +
hBD-3	0	0 / +	0	0 / +	0	0
hBD-4	0 / +	0	0	0	0	0

Apzīmējumi: 0 – redzes laukā nav nevienas pozitīvas struktūras; 0 / + – redzes laukā retas pozitīvas struktūras; + – redzes laukā maz pozitīvu struktūru; ++ – redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru; +++ – redzes laukā daudz pozitīvu struktūru

Saīsinājumi: hBD-2 – cilvēka beta defensīns-2; hBD-3 – cilvēka beta defensīns-3; hBD-4 – cilvēka beta defensīns-4

3.4.1. Defensīns-2

Defensīns-2 tika atrasts daudz onihomikozes skartu nagu struktūrās gultnes un saistaudu daļā. Gultnē tādas tika atrastas vidēji daudz līdz daudz, bet saistaudu daļā – maz līdz vidēji daudz. Naga plātnītes daļā to konstatēja maz struktūrās (sk. 3.40., 3.41. un 3.42. att. pielikumā).

Kontroles grupas nagos redzēja tikai atsevišķas defensīnu-2 pozitīvas struktūras redzes laukā naga plātnītes un gultnes daļā. Saistaudos defensīns-2 netika konstatēts (sk. 3.43. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tika izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.13. tab.).

3.13. tabula

hBD-2 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
hBD-2 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	5,10 20,15	25,50 604,50	10,500	0,001	1,725	0,002
hBD-2 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	6,90 19,85	34,50 595,50	19,500	0,006	1,449	0,007
hBD-2 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	9,90 19,35	49,50 580,50	34,500	0,052	0,966	0,153

Saīsinājums: hBD-2 – cilvēka beta defensīns-2

Abi testi **ļāva pierādīt statistiski nozīmīgu atšķirību** starp onihomikozes skarto nagu un kontroles nagu gultnes un **saistaudu** pozitīvo struktūru daudzumu. Tas nozīmē, ka hBD-2 pārliecinoši lielākā daudzumā atrod onihomikozes skartos nagos (salīdzinājumā ar kontroles grupas nagiem).

3.4.2. Defensīns-3

Retas defensīna-3 pozitīvas struktūras tika atrastas onihomikozes skarto nagu saistaudu daļā, bet gultnē un naga plātnītē tās netika atrastas.

Kontroles grupas nagos atsevišķas defensīna-3 pozitīvas struktūras tika atrastas naga gultnes daļā, bet saistaudos un naga plātnītē tās netika atrastas (sk. 3.44. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tiek izmantotas neparametriskās t–testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.14. tab.).

3.14. tabula

hBD-3 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova–Smirnova tests	p-vērtība
hBD-3 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	22,90 17,18	114,50 515,50	50,500	0,051	0,759	0,051
hBD-3 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	16,00 18,33	80,00 550,00	65,000	0,612	0,276	0,709
hBD-3 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	19,50 17,75	97,50 532,50	67,500	1,000	0,207	1,000

Saīsinājums: hBD-3 – cilvēka beta defensīns-3

Abi testi uzrāda, ka nulles hipotēzi par rādītāju atšķirību eksperimenta un kontroles grupā var noraidīt, t. i., nevar apgalvot, ka onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos ir dažāds novērojamo struktūru daudzums (**statistiska atšķirība netika atrasta**).

3.4.3. Defensīns-4

Defensīns-4 netika konstatēts ne onihomikozes skartos, ne arī kontroles grupas nagos (sk. 3.45. un 3.46. att. pielikumā).

Lai pārbaudītu rādītāju atšķirības onihomikozes un kontroles grupā, tiek izmantotas neparametriskās t-testa alternatīvas: Manna–Vitnija U tests un Kolmogorova–Smirnova divu izlašu tests (sk. 3.15. tab.).

3.15. tabula

hBD-4 saturošo struktūru korelatīvais salīdzinājums onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos

Grupa	N	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna– Vitnija U tests	p-vērtība	Kolmogorova– Smirnova tests	p-vērtība
hBD-4 gultnē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	17,00 18,17	85,00 545,00	70,000	1,000	0,138	1,000
hBD-4 saistaudos: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	17,00 18,17	85,00 545,00	70,000	1,000	0,138	1,000
hBD-4 plātnītē: kontroles grupa onihomikozes grupa kopā	5 30 35	15,50 18,42	77,50 552,50	62,500	0,578	0,345	0,578

Saīsinājums: hBD-4 – cilvēka beta defensīns-4

Abi testi uzrāda, ka nulles hipotēzi par rādītāju atšķirību eksperimenta un kontroles grupā var noraidīt, t. i., nevar apgalvot, ka onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos ir dažāds novērojamo struktūru daudzums (**statistiska atšķirība netika atrasta**).

3.5. Datu statistiskās korelācijas

Tā kā mainīgie, starp kuriem tiek meklētas sakarības, neatbilst normālam iedalījumam, tad tika izmantots neparametriskais tests – Kendela (*Kendall*) tau-b tests, lai pārbaudītu, vai starp diviem mainīgiem pastāv statistiska sakarība. Ar testa palīdzību tika novērtēta rangu korelācija. Spīrmēna korelācijas tests tika veikts rezultātu kontrolei.

Tatad pētījumā tika rastas šādas korelācijas:

- 1) **cieša, pozitīva korelācija** starp PAS reakcijas pozitivitāti un ieslēgumu atradi onihomikozes skartos nagos;
- 2) **vāja, pozitīva korelācija** starp citokīna IL-10 daudzumu onihomikozes skarto saistaudu daļā un pacientu vecumu;
- 3) **vāja līdz vidēji cieša, bet negatīva korelācija** starp onihomikozes smagumu un hBD-2 saturošo struktūru daudzumu naga vienības saistaudu daļā;
- 4) **vāja, negatīva korelācija** starp hipertrofiju un akantozi onihomikozes skartā nagā.

Nevar noraidīt iespēju, ka šādu sakarību ir vairāk, bet to nevar konstatēt, jo, iespējams, tās nav statistiski nozīmīgas mazā izlases apjoma dēļ.

Minēto testu rezultātus var apskatīt 3.16. tabulā.

3.16. tabula

Korelācijas starp dažādām pazīmēm onihomikozes skartos nagos

Pazīme	N	Kendela tau-b tests		Spīrmēna tests	
		koeficients	p-vērtība	Koeficients	p-vērtība
PAS / ieslēgumi	30	0,697	0,001	0,644	0,000
IL-10 S / vecums	30	0,313	0,032	0,413	0,023
hBD-2 S / smagums	30	-0,462	0,002	-0,579	0,001
Hipertrofija / akantoze	30	-0,417	0,019	-0,437	0,016

Saīsinājumi un skaidrojumi: PAS – periodiskas skābes *Schiff* reakcija; IL-10 – interleikīns-10; hBD-2 – defensīns-2; S – naga vienības saistaudu daļa; smagums – onihomikozes klīniskais indekss

4. DISKUSIJA

Onihomikoze nav dzīvi apdraudoša slimība, tomēr tā nozīmīgi iespaido cilvēku dzīves kvalitāti. Pie distrofiskām nagu izmaiņām 50% gadījumu ir vainīgas parazitiskās sēnītes [Elewski, 1998]. Pie distrofiski izmanītiem nagiem diferenciāldiagnoze ir *psoriasis*, *lichen planus*, *onychogryphosis* un naga trauma, *diabetes mellitus*, imūnsupresija, hiperhidroze un perifērās cirkulācijas traucējumi [Cohen, 1992].

Onihomikozi var izraisīt trīs dažādu veidu sēnītes: dermatofīti, raugveida sēnītes un pelējumi. Katrai sēņu grupai ir savas raksturīgās iezīmes, tomēr onihomikozi var uzskatīt par vissarežģītāk ārstējamu dermatofītozi, jo nepieciešama ļoti ilgstoša antimikotisko preparātu lietošana. Terapijas ilgums saistīts arī ar lēnu nagu ataugšanu, jo slimi nagi skaitās izārstēti tikai tad, ja plātnīte ir ataugusi vesela visā garumā. Situāciju pasliktina pacientu vecums, jo slimo pārsvarā cilvēki gados, kuriem bieži ir blakusslimības. Pastāv ļoti liels risks reinfekcijai, tāpēc vienmēr jādomā, kā stiprināt pacienta imunitāti un dabīgās aizsargspējas. Onihomikožu gadījumos ārstam ir jāizlemj jautājums par iekšķīgās terapijas iespējamību un noderīgumu katrā konkrētajā situācijā.

Šajā darbā galvenais uzdevums bija izpētīt onihomikozes skarto naga vienību no dažādiem aspektiem: vispārējās audu histoloģijas, apasiņošanas, inervācijas, iekaisuma interleikīnu izdales un audu restrukturizācijas viedokļa. Svarīga darba daļa bija izpētīt defensīnu 2–4 klātbūtni patogēno sēnīšu skartos nagos.

Jāuzsver, ka literatūrā nebija pieejami dati par līdzīgiem pētījumiem, kur būtu aprakstīti onihomikozes skarto nagu dažādu faktoru imūnhistoķīmisko izmeklējumu rezultāti. Ir vairāki darbi par mikožu radītām izmaiņām audos, lielākoties darbi par mikožēm HIV vai imūnsupresētiem pacientiem un darbi veterinārajā medicīnā [Mitchell, 2007; Nishikaku, 2009; Yuan, 2009; Marangon, 2009; Villar, 2012]. Ir atrodami daži pētījumi par defensīnu atradi dzīvnieku nagos un mikožu skartā ādā.

Šajā pētījumā tika noskaidrots, ka no 30 onihomikozes pacientiem septiņiem slimības ierosinātājs bija dermatofīts, četros gadījumos – raugveida sēnītes un trīs gadījumos – pelējuma sēnītes. Kopumā 14 gadījumos no 30 bija izdevies noskaidrot precīzu slimības ierosinātāju. 16 gadījumos uzsējums infekcijas ierosinātāja diagnostikai vai nu nebija veikts, vai arī tas bija negatīvs. Šī pētījuma mērķis nebija noskaidrot onihomikozes epidemioloģisku situāciju, tomēr

pētījumā iekļauto pacientu epidemioloģiskie dati saskan ar pirms tam veiktā pētījuma datiem (n = 27 892) par onihomikozes ierosinātāju spektra iedalījumu Latvijā. Tas ir, ierosinātāju izdevās noskaidrot tikai 53% gadījumu, bet pārējie 47% uzsējumu bija negatīvi [Murashko, 2009]. Analizējot mūsu tagadējā pētījuma ierosinātāju spektru, jāsecina, ka slimības ierosinātāji bija dermatofīti – 53% gadījumu, rauga sēnītes – 35% un pelējuma sēnītes – 12%.

Trychophyton rubrum bija slimības ierosinātājs divos gadījumos, bet vēl piecos gadījumos tas bija *Trychophyton spp.* Šie dati saskan ar Igaunijas zinātnieku datiem par *Trichophyton rubrum* kā biežāko dermatofītu – onihomikozes ierosinātāju [Järv, 2004].

Dermatofīti ir miceliālie mikroorganismi, kas producē garas šūnu ķēdes, hifas, kuru galvenais uzdevums ir penetrēt *stratum corneum*. Tas notiek ar proteāžu palīdzību, kas sašķel keratīnu [Hay, 1992]. Dermatofītijas tipiskās pazīmes ir naga plātnītes sabiezēšana un oniholīze.

Pētījumā iekļauto onihomikozes pacientu vidējais vecums ir 55,8 gadi. Šajā vecumā nagu ataugšanas ātrums ir ievērojami lēnāks nekā jaunākiem pacientiem [Abdullah, 2011; Baran, 2011].

Novecojot naga plātnītes keratinocīti palielinās izmēros, palielinās tā saucamo “*pertinax*” ķermenīšu daudzums, kas pēc būtības ir šūnu kodolu atliekas. Naga gultnes saistaudu daļa sabiezē, parādās asinsvadu un elastīgo šķiedru deģenerācijas pazīmes.

Roku nagu ataugšanas ātrums vidēji ir 0,1 mm dienā (3,0 mm mēnesī), savukārt kāju nagu ataugšanas ātrums ir 0,03 mm dienā (1,0 mm mēnesī). Sākot no 25 gadu vecuma, naga ataugšanas ātrums samazinās aptuveni par 0,5% gadā. Jāņem vērā, ka vecu cilvēku nagi mainās arī vizuāli: tie kļūst duļķaini, iegūst dzeltenīgu nokrāsu, parādās *leuconychia* pazīmes, tiem raksturīga hiperkeratoze [Singh, 2005]. Šīs nagu izmaiņas ir ļoti svarīgi ņemt vērā pie onihomikožu diferenciāldiagnostikas, jo visiem mūsu pētījuma pacientiem bija līdzīgas klīniskās nagu izmaiņas.

Mūsu pētījumā piedalījās abu dzimumu pārstāvji ar nelielu sieviešu dzimuma pārsvaru. Citu autoru domas šajā sakarā ir atšķirīgas. Vieni uzskata, ka ar onihomikozi vienlīdz bieži slimo gan sievietes, gan arī vīrieši [Cohen, 1992], citi uzsver sieviešu dzimuma prevalenci [Pires, 2014] vai pretēji – vīriešu īpatsvaru [Lone, 2013].

Gandrīz visiem mūsu pētījumā iesaistītajiem pacientiem ir liels SCIO, t. i., klīniskais smaguma indekss. Šo indeksu ir ļoti svarīgi novērtēt pirms terapijas sākuma, lai prognozētu ārstēšanās kursa ilgumu un pieeju, kā arī SCIO palīdz novērtēt ārstēšanas dinamiku. Mūsu pētījuma pacientu vidējā SCIO indeksa vērtība ir 22,56, kas liecina, ka nepieciešama ilgstoša sistēmiska terapija, un norāda uz smagu onihomikozes klīnisko formu. Visbiežākā onihomikozes forma pētījuma pacientiem ir bijusi distāli laterālā. Liela SCIO vērtība parāda arī to, ka pārsvarā visiem pacientiem ir bijusi izteikta zemnaga hiperkeratoze, kas prasa papildus speciālu pieeju terapijai (keratolītiķi vai regulāras ārstnieciskā pedikīra procedūras). Spriežot pēc publikācijām, arī citi autori ir izmantojuši SCIO savos pētījumos, lai iedalītu pacientus pa grupām un novērtētu izārstēšanos [Sumikawa, 2007; Kawai, 2014].

Onihomikozes diagnostikā svarīga ir materiāla savākšanas tehnika, pielietotās metodes un rezultātu interpretācija.

Kā apstiprinošā onihomikozes diagnostika mūsu pētījumā tika pielietota biopsija jeb tā saucamā “*punch*” biopsija, kas pierādīja sevi kā precīza un galvenais droša metode onihomikozes diagnostikai. Tika analizēti specifiskā PAS krāsojuma rezultāti visiem nagu preparātiem. No 30 onihomikozes gadījumiem PAS reakcija bija pozitīva 24 gadījumos, t. i., 80%. Jāpiebilst, ka visos gadījumos, kad PAS reakcija bija pozitīva, kā blakus pozitīva atrade bija arī ieslēgumi naga plātnītē un parakeratoze krāsojumā ar hematoksilīnu / eozīnu. Visos gadījumos naga biopsijas vieta pacientiem sadzijusi labi, bez blaknēm. Pēc pacientu vārdiem, viņi jūta diskomfortu tikai pirmās dienas pēc procedūras, dažiem novēroja asiņošanu no brūces manipulācijas dienā.

Šie dati saskan ar vairākiem literatūras avotiem, kuros pamatota biopsijas nepieciešamība pie onihomikozes izteiktas klīnikas un pie negatīviem mikroskopijas un / vai uzsējumu rezultātiem [Karimzadegan-Nia, 2007; Barber, 2009; Moreno-Coutiño, 2010]. Šie autori apstiprina biopsijas svarīgo lomu arī tādos gadījumos, kad sēnīšu izmainīti nagi jāatšķir no iekaisuma rakstura slimībām, kas ietekmē nagus. Šo procedūru raksturo kā vienkāršu, drošu un rezultatīvu, īpaši onihomikozes histopatoloģiskai pierādīšanai.

Pārsvarā dermatologi vairās no naga biopsijām, uzskatot to par ķirurģisku manipulāciju, tādējādi iespējamās onihomikozes diagnostikas gadījumos balstās tikai uz uzsējuma un mikroskopijas vai pat tikai mikroskopijas rezultātiem. Savukārt patologi nepatīk saņemt nagu biopsiju materiālu, jo, lai izgatavotu labu preparātu un pareizi to interpretētu, jābūt korekti paņemtam materiālam, paraugu svarīgi ideāli orientēt parafīnā. Zinātnieks Andrē (*André*) iesaka

to darīt paralēli gareniskajai naga asij. Biopsiju izmēram būtu jābūt vismaz 3–4 mm diametrā [André, 2013].

Čangs ir publicējis datus par 97% rezultativitāti, veicot onikomikozes histoloģisko izmeklējumu [Chang, 2007]. Savukārt autoru grupa no Indijas ir veikusi interesantu pētījumu par onihomikozu diagnostikas rezultativitāti, pielietojot gan standarta mikoloģisko, gan arī PAS metodi. Izpētes grupā bija HIV pozitīvie pacienti ar subungvālo hiperkeratozi un onihomikozes pacienti bez HIV. Abās grupās tika pierādīta PAS krāsojuma rezultativitāte 90% gadījumu [Nagar, 2012].

Mūsu pētījumā iegūtie dati arī liecina par ļoti augstu PAS reakcijas rezultativitāti, tomēr citiem minētiem autoriem šādi rezultāti bija augstāki. Tas varētu būt saistīts ar nelielo mūsu pētāmo grupu, kurā bija tikai 30 onihomikozes pacientu.

Kopumā pozitīva un cieša korelācija pastāv tieši starp ieslēgumu daudzumu onihomikozes skarto nagu plātnītē un PAS reakcijas pozitivitāti. Jāsecina, ka gadījumos, kad PAS reakcija ir negatīva, bet tomēr redz ieslēgumus, tāpat jādomā par onihomikozes diagnozi pacientam, iespējams, iepriekš ārstētu slimību.

Mēs, līdzīgi kā citi autori [Stewart, 2012; André, 2013], pozitīvās PAS reakcijas gadījumā konstatējām sēņu elementus dažādās attīstības stadijās. Bija redzamas gan hifas, gan sporas. Pārsvārā šos elementus vēro naga plātnītes virspusējā daļā.

Precīzi slimības ierosinātāju var noteikt tikai ar kultūras metodi, tomēr pēc sēņu elementu vizuālām pazīmēm var aptuveni noteikt slimības ierosinātāja grupu. Regulāras, taisnas, septētas hifas ar tendenci novietoties paralēli naga plātnītes virsmai ir raksturīgas dermatofītiem, bet mazas, apaļīgas sporas, pseidohifas un īsi filamenti ir raksturīgi raugveida sēnītēm. Tiek uzskatīts, ka sporas bez pseidohifām ir piesārņotājs, un ka tās nevar patstāvīgi ierosināt onihomikozi. Saīsinātas sporas un neregulāras hifas, no kurām atiet sīki, īsi filamenti, vairāk ir raksturīgas pelējumu infekcijai [André, 2013].

Šajā pētījumā mēs nenovērtējām sporu vizuālo izskatu katrā konkrētajā gadījumā, kā arī mums nebija precīzu datu par slimības ierosinātājiem katrā no 30 onihomikozes gadījumiem. Tomēr tas varētu būt jauns, interesants pētījumu virziens nākotnē.

Novērtējot onihomikozes skarto nagu morfoloģiju, tika apskatīti preparāti, kas bija nokrāsoti ar hematoksilīnu / eozīnu, kā arī PAS. Vairākos preparātos ieslēgumus varēja labāk novērtēt tieši PAS reakcijā. Mūsu pētījumā statistiski ticami pierādīts, ka onihomikozes skartos nagos salīdzinājumā ar kontroles grupas nagiem ir ievērojami vairāk izteikta naga plātnītes parakeratoze, ieslēgumu daudzums naga plātnītē, pericelulāra tūska naga gultnes šūnās, kā arī vaskularizācija un fibrocītu daudzums dermas daļā. Onihomikozes skartos nagos 18 preparātos tika atrasta naga plātnītes hiperkeratoze. Novērtējot onihomikozes skarto nagu gultni, var teikt, ka lielākajā daļā preparātu ir gultnes epitēlija granuloze, pusei preparātu redz sīkperēkļainu epitēlija vakuolāru bojājumu, 22 preparātos redz pericelulāru tūsku. Dermai ir izteikta normotrofisko un hipertrofisko kolagēno šķiedru un sīko asinsvadu klātbūtne. Fibrocītu daudzums dermā variē no 30 līdz 120 šūnām redzes laukā.

Mūsu pētījuma dati par pārragošanās traucējumiem patogēno sēnīšu skartā nagā pilnībā saskan ar Jensena publicētajiem datiem par dermatofītu radītām izmaiņām gludā ādā. Gandrīz katrā preparātā redzēja parakeratozes perēkļus ar sēņu elementu ieslēgumiem tajos [Jensen, 2007].

Par onihomikozes skarto nagu morfoloģiju nav daudz publikāciju, toties esošie dati liecina par citu autoru atrades līdzīgumu. Histoloģiskās pārmaiņas onihomikozes gadījumā visbiežāk raksturo kā psoriaziformas, kam izteikta naga gultnes epitēlija hiperplāzija, neitrofilo leukocītu ekzocitoze, šūnu spongioze un parakeratoze [André, 2013; Martin, 2013].

Mūsu pētījumā gandrīz visos onihomikozes gadījumos tika novērota *stratum corneum* sabiezēšana, ko varētu uzskatīt par pirmo un svarīgāko audu aizsargreakciju onihomikozes gadījumā.

Visbiežākie ādas infekciju ierosinātāji ir šādi dermatofīti: *Trichophyton*, *Microsporum* un *Epidermophyton*. Tie inficē keratinizētos audus un ādas derivātu *stratum corneum*. Inficēšanās laikā svarīga loma piemīt gan proteināzēm, kināzēm un enzīmiem, gan arī imūnajiem modulatoriem. Vēl joprojām nav līdz galam saprotams naga imūnās atbildes mehānisms dermatofītu infekcijas procesā, taču zināms, ka aizsardzības mehānisms pamatojas uz iedzimtās imunitātes atbildi pret sēņu metabolītiem, inficējošā aģenta virulenci un anatomijas īpatnībām infekcijas vietā. Slimības smaguma pakāpi un progresiju nosaka divi imūnās sistēmas aspekti: ātrā tipa alerģiska reakcija un aizkavēta tipa hipersensitivitātes reakcija [Zahur, 2014].

Mikotiskās ādas slimības iznākumu nosaka dabīgā imunitāte un imunoloģiskās atbildes ekspresija. Pie iedzimtās jeb dabīgās imunitātes pieder arī ādas spēja sabiezēt, t. i., *stratum corneum* proliferācijas spējas kā atbilde uz bojājumu. Dabīgās ādas imunitātes kapacitāte ir atkarīga no vecuma, piemēram, ādas fotonovecošanās to ievērojami samazina. Pie dabīgiem ādas aizsargmehānismiem pieskaita brīvās taukskābes uz ādas virsmas, kas kavē sēņu apvalka adhēziju pie keratinocītiem, tādējādi nepieļaujot inficēšanos un infekcijas izplatīšanos. Faktori, kas nosaka sēņu invāzijas iznākumu, ir Langerhansa šūnu realizētā antigēna prezentācija un efektoršūnu akumulācija (lielākoties neitrofilo leukocītu) kā atbilde uz sēņu izdalītiem hemotakses faktoriem un T limfocītu aktivāciju. Citokīnu produkcija pastiprina neitrofilo leukocītu darbību, aktivē keratinocītus ekspresēt HLA-DR un izstrādāt vēl vairāk citokīnus, piemēram, IL-1 [Hay, 1992].

Mikotiskās infekcijas gadījumā citokīniem piemīt noteicošā loma CD4 T šūnu diferenciācijas palaišanā. Th1 un Th17 šūnām ir visnozīmīgākā loma imūnā atbildē pret mikotiskām infekcijām. Šo šūnu diferenciēšanos kontrolē IFN- γ un IL-12 [Espinosa, 2012]. Savukārt Campos (Campos) un līdzautori uzsver tieši TNF α un IL-10 paaugstināšanos audos *Trichophyton rubrum* infekcijas gadījumā [Campos, 2006].

Sistēmiskās sēņu infekcijas gadījumā uzsvērta tieši IL-1 nozīme imunoloģiskās atbildes veidošanā pret sēņu mikroorganismiem. Ir pierādīts, ka sistēmiskās sēņu infekcijas gadījumā IL-1 paaugstina T šūnu diferenciēšanos par Th17 [Wüthrich, 2013].

Literatūrā nebija atrodami dati par IL-1 klātbūtni onihomikozes skartos nagos, tomēr bija dati, kas liecina par IL-1beta un IL-6 daudzuma palielināšanos audos sēņu izcelsmes keratīta gadījumā [Zhong, 2009], kā arī pastiprinātu IL-1, IL-6 un IL-10 produkciju no monocītu puses asinīs *Paracoccidioides brasiliensis* infekcijas gadījumā [Kurokawa, 2007]. *Candida* infekcijas sakarā tiek minēta arī komplementa aktivācijas fragmenta C5a svarīgā loma. Šis aktivācijas fragments veidojas kā atbildes reakcija uz *Candida* infekciju un ierosina šūnu atbildi ar IL-6 un IL-1 beta citokīnu palīdzību [Zipfel, 2012].

Mūsu pētījumā IL-1 nebija atrodams onihomikozes skartos nagos nevienā no apskatītajām naga vienības struktūrām. Kontroles grupas nagos IL-1 pozitīvās struktūras bija maz līdz vidēji daudz naga gultnē, savukārt retas pozitīvas struktūras bija redzamas veselo nagu saistaudu un plātnītes daļā. Šāda mūsu atradne norāda uz to, ka IL-1, kurš ir viens no visaktīvākajiem

proiekaisuma rādītājiem [Gabay, 2010; Weber, 2010], naga onihomikozes gadījumā nav par tādu uzskatāms.

Toties IL-6 mūsu pētījumā tika atrasts ļoti lielā struktūru daudzumā tieši onihomikozes skarto nagu gultnes un saistaudu daļā, savukārt naga plātnītē bija redzams maz IL-6 pozitīvu struktūru. Kontroles nagos IL-6 konstatējām mazos daudzumos visās naga vienības daļās. IL-6 klātbūtne naga gultnītē un asinsvados liecina par aktīvu organisma imūnās sistēmas līdzdalību cīņā ar sēnīšu infekciju. Patogēno mikroorganismu izraisīts audu bojājums rada tūlītēju IL-6 sintēzi [Heinrich, 2003]. Tādējādi IL-6 raksturojams kā viens no aktīvākajiem proinflammatorajiem citokīniem cilvēka organismā, ko sintezē aktivizētie monocīti, makrofāgi, T-limfocīti, endoteliocīti, kā arī fibroblasti. Tā sekrēcija sākas pēc patogēna – saistīto molekulu aktivācijas caur *Toll-like* receptoriem. Galvenā IL-6 darbība saistīta ar kofaktora funkciju B-limfocītu diferenciācijas un nobriešanas procesā, kā arī IL-2 produkcijas stimulēšanā. Tas savukārt ir nepieciešams T-limfocītu ražošanai.

IL-10 pozitīvas struktūras onihomikozes skartos nagos maz līdz vidēji daudz tika atrastas naga gultnes audos, dažos preparātos vēroja ļoti lielu IL-10 pozitīvu struktūru daudzumu redzes laukā līdz pat totālai gultnes šūnu citoplazmas reakcijai. Naga saistaudos un plātnītē IL-10 arī bija, bet maz struktūrās. Kontroles grupas nagu gultnē un saistaudos IL-10 tika atrasts maz līdz vidēji daudz, bet plātnītē vēroja tikai atsevišķas pozitīvas struktūras. IL-10 vairumā gadījumu ir tas citokīns, kas darbojas 73rēt iekaisumu [Zdanov, 1995; Ouyang, 2011]. Pieļaujam, ka mūsu onihomikozes pacientiem tas arī ir viens no galvenajiem naga pretestības rādītājiem.

Tādējādi mūsu pētījuma dati tikai daļēji saskan ar Žong [Zhong, 2009] un citu autoru darbu rezultātiem par iekaisuma citokīnu atradi audos pie mikotiskās infekcijas. Onihomikozes skarto nagu gadījumā nepārprotami liela iekaisuma citokīnu produkcija vērojama nagu gultnē, kur pārliecinošu īpatsvaru veido IL-6 un IL-10.

Viens no svarīgākajiem audu restrukturizācijas komponentiem ir matricas metaloproteināzes. MMP-2 kopā ar MMP-9 degradē IV tipa kolagēnu, kas visvairāk atrodas saistaudu pamatvielā [McCawley, 2001]. Savukārt, inficējot peles ar *Paracoccidioides brasiliensis*, ir pierādīta MMP indukcija, kas, iespējams, ir saistīta ar granulomu veidošanos audos un sēņu disemināciju [Nishikaku, 2009].

Matricas metaloproteināzes, specifiski audu proteolītiski fermenti, tiek plaši pētīti sakarā ar mikotiskām infekcijām. Diemžēl nebija atrodams neviens darbs, kurā būtu apskatīts audu

restrukturizācijas jautājums tieši onihomikozes gadījumā, toties veterinārajā medicīnā aktuāls ir mikotiskais radzenes iekaisums. Vairāki autori mikotisko radzenes audu bojājumu gadījumā min tieši MMP-2 un MMP-9 nozīmi. Pētot eksperimentālās keratomikozes iznākumu pelēm, Mitčels (*Mitchell*) un līdzautori apstiprināja MMP-9 pastiprinātu produkciju drīz pēc korneāla bojājuma, kā arī pēc filamentozo sēņu invāzijas. Interesanti, ka MMP-2 sintēzes palielināšanās šajā pētījumā nebija atrodama [*Mitchell*, 2007]. Pretrunīgi dati atrodami trīs gadus vēlāk rakstā, kurā autoru kolektīvs pierāda abu MMP, gan MMP-9, gan MMP-2, daudzuma palielināšanos pie sēņu izcelsmes keratīta [*Boveland*, 2010]. Pēc citu autoru domām, *Candida* sēnītes var ietekmēt iekaisuma reakciju audos, modulējot tieši MMP-9 un tās inhibitoru izdali [*Pärnänen*, 2010].

Mūsu pētījumā tika apskatīta tikai MMP-2 atrade audos un konstatēts, ka onihomikozes skartos nagos salīdzinājumā ar kontroles grupas nagiem šo proteolītisko enzīmu atrod pārliecinoši vairāk. Onihomikozes skarta naga gultnē un saistaudu daļā bija konstatējamas maz līdz vidēji daudz MMP-2, plātnītes daļā – maz MMP-2 pozitīvo struktūru. Kontroles grupas nagos MMP-2 gultnē bija maz šūnās, bet saistaudos un plātnītē gandrīz nebija. Tādējādi mūsu MMP-2 atrade onihomikozes skartos nagos līdzinās citu autoru domām par intensīviem restrukturizācijas procesiem patogēno sēnīšu skartos audos.

Ja audos notiek hronisks iekaisums, tad vēro asinsvadu gultnes izmaiņas, un šajā procesā ir iesaistīti gan citokīni (IL-6 un IL-10) un augšanas faktori, gan arī audu MMP. Ir aprakstīta arī MMP loma angiogēnēzes procesā [*Sariahmetoglu*, 2007].

Par vienu no vaskuloģenēzes rādītājiem min VEGF. Šo augšanas faktoru šūnas izstrādā situācijās, kad audi cieš no skābekļa bada un nepieciešams veidot jaunus asinsvadus [*Karkkainen*, 2000].

Par asinsvadu gultnes izmaiņām pie onihomikozes nav nekādu datu. Mikotiskās izcelsmes keratīta gadījumā audos strauji pieaug VEGF-A daudzums, tāpēc notiek progresīva radzenes asinsvadu jaunveidošanās [*Yuan*, 2009].

Mūsu pētījumā iesaistīto onihomikozes pacientu nagu biopsiju materiālā VEGF tika pētīts naga vienības saistaudu daļā. Veselajos nagos VEGF nebija atrodams, turpretī onihomikozes skartos nagos VEGF pozitīvas struktūras bija atrodams maz. Tomēr ir pierādījusies statistiska atšķirība starp abām pētījumā iesaistītajām grupām. Šī atrade ļauj pieņemt, ka onihomikozes gadījumā naga saistaudu daļā notiek vaskuloģenēzes procesi.

Lai saprastu, vai onihomikozes izmanītos audos mainās nervu šķiedru daudzums, tika veikts preparātu krāsojumu uz PGP9,5. Neuropeptīdus saturošās inervācijas marķieris 9,5 ir proteīns, kas tiek uzskatīts par galveno neironu un neuroendokrīno šūnu marķieri [Day, 2010].

Mūsu dati liecina, ka statistiski lielas atšķirības PGP9,5 daudzuma ziņā onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos nav. Datu bāzēs nav pieejama informācija par PGP9,5 daudzuma noteikšanu audos pie onihomikozēm, kā arī mikozēm vispār. Jādomā, ka onihomikozes gadījumā audu inervācija saglabājas nemainīga.

Par audu restrukturizāciju liecina arī apoptoze. Apoptozes galvenā funkcija ir likvidēt defektīvas, t. i., izmainītas vai inficētas šūnas. Tādējādi apoptozes process nodrošina audu nemainīgas vides saglabāšanos un šūnu diferencēšanos [Kerr, 2002; Diamantis, 2008]. Iekšējo vai ārējo šūnas stimulatoru ietekmē tiek palaista kaspāžu kaskāde, kas aktivizē programmētas šūnu nāves procesu. Atšķirībā no nekrozes apoptozes laikā šūnai ir raksturīgas tādas pazīmes kā kodola fragmentācija un DNS degradācija [Ramsdale, 2008]. Šī speciālā šūnas nāves signāla pārvadīšana kā atbilde uz mikrobu organismu iedarbību nodrošina svarīgu lomu dažādu infekcijas slimību patoģenēzē.

Diemžēl par apoptozes procesa klātbūtni un izteiktību pie onihomikozes dati nav atrodamī, tomēr mikožu sakarā šis temats ir plaši pētīts.

Pētot *Fusarium oxysporum* infekcijas izpausmes peļu ādā, ir atrasts, ka iekaisuma reakcijas pīķis audos kā atbildes reakcija uz infekciju attīstās aptuveni 12 stundas pēc mikroorganismu inokulācijas. Iekaisuma izpausmes vēroja gan dermā, gan arī subdermāli. Iekaisumu kopumā vērtēja kā vidēji smagu līdz smagu. Audos vēroja granulocītu, limfocītu un makrofāgu klātbūtni. Nozīmīgi pieauga tuklo šūnu daudzums, kā arī hiperemēto asinsvadu un apoptotisko ķermenīšu daudzums. Pozitīvu TUNEL reakciju vēroja keratinocītos, fibroblastos, endoteliālās šūnās, muskuļos un iekaisuma infiltrāta šūnās. Autori šīs izmaiņas audos saista ar sēņu toksisko metabolītu iedarbību [Marangon, 2009].

Invazīvās aspergilozes gadījumā tika pētīta iedarbība starp nenobriedušām dendrītiskām šūnām (iDCs) un *Aspergillus fumigatus* antigēniem (Aspf1 un Crf1). Aspf1 izraisa pastiprinātu proinflatatoro citokīnu kodējošo gēnu ekspresiju un dendrītisko šūnu apoptozi. Ar fluorescentās mikroskopijas palīdzību noteica, ka pirmās trīs stundas pēc inficēšanās lielākais Aspf1 daudzums akumulējas tieši uz šūnu virsmas [Ok, 2009].

Zināms, ka *Candida albicans* inducē apoptozi epiteliālās šūnās, tostarp keratinocītos, caur sekretoro proteāžu Sap4-6 iedarbību uz šūnām. Šis iedarbības mehānisms tiek apzīmēts kā Trojas zirgs, jo sākumā šie enzīmi piesaistās pie šūnas virsmas receptoriem RGD, pēc tam tiek endocitēti un tikai tad atbrīvojas no lizosomālām membrānām, palaižot apoptozes procesu šūnā [Wu, 2013].

Cits autoru kolektīvs secina, ka imūnās atbildes laikā pret *Candida albicans* tiek aktivēts epiteliālo šūnu apoptozes mehānisms, tomēr trūkst ietekmes uz apoptotiskā procesa progresu un apoptotisko šūnu nāvi. Ir izpētīts, ka agrīnās apoptotiskās pazīmes pēc *Candida albicans* infekcijas vēro vairāk nekā 50% epiteliālo šūnu, bet vēlīnās apoptotiskās alterācijas vēro tikai 15% šūnu. Molekulārā līmenī *Candida albicans* izraisa mitohondriju transmembrānu potenciāla zudumu un mitohondriālā citohroma C translokāciju. Savukārt kaspāžu 3/9 aktivitāte palielinās tikai pirmās stundas pēc infekcijas [Villar, 2012].

Savā pētījumā noteicām apoptotisko šūnu skaitu onihomikozes skarto nagu gultnes daļā. Tika atrasts, ka onihomikozes skartos nagos AI vidēji ir 49%, bet kontroles grupas nagos – 18%. Tas pierāda intensīvu apoptozes procesu norisi onihomikozes skartos nagos salīdzinājumā ar veselajiem nagiem.

Sasaistot apoptozes procesa norisi ar citokīnu izdali audos, tikusi pētīta *Candida albicans* ietekme uz makrofāgiem sēņu infekcijas laikā. Inkubējot *Candida albicans* kopā ar makrofāgiem, tika novērotas agrīnās apoptozes pazīmes, vēlāk par divām stundām – jau nekrozes pazīmes šūnās. Savukārt 24 stundas pēc makrofāgu inkubācijas sākuma peļu peritoneālos dobumos vēroja izteiktu neitrofīlo leukocītu daudzuma palielināšanos un IL-10 pieaugumu eksudātā [Gasparoto, 2004].

Līdzīgus datus iepriekšminētajiem ieguvām arī mēs, jo onihomikozes skartos nagos vēroja gan izteiktu IL-10 klātbūtni, gan arī lielu daudzumu apoptotisko šūnu. Visvairāk šīs pazīmes bija izteiktas tieši naga gultnē. Programmētās šūnu nāves vizualizācija mūsu pacientu biopātņu preparātos liecina par intensīvu defektīvo un nepilnvērtīgo naga gultnītes šūnu likvidācijas procesu.

Kā atbilde uz svešu organismu invāziju cilvēka organisma šūnas izstrādā ne tikai interleikīnus, kas palaiž iekaisuma reakciju, bet arī antimikrobos peptīdus, kas ir mūsu dabīgās antibiotikas, kas pasargā organismu no potenciālās inficēšanās.

Patlaban bioķīmiski ir izolēts vairāk nekā 800 antimikrobo peptīdu (AMP). AMP ir mazi, šķīstoši, pozitīvi lādēti proteīni, kas ir spējīgi nomākt vai nogalināt mikrobus, selektīvi bojājot to šūnas membrānu. Cilvēkiem atrod ketelīcidīnu un defensīnu saimes antimikrobo peptīdus [Rodrigues, 2009; Lai, 2010]. Doršners (*Dorschner*) un līdzautori pētīja naga vienību no dabīgās iedzimtās imunitātes viedokļa un pierādīja nagu ekstrakta pretmikrobo darbību pret *Candida albicans* [Dorschner, 2004]. Interesanti, ka cilvēka antimikrobie peptīdi tika pieminēti arī kā keratinocītu apoptozes regulatori [Chamorro, 2009].

Līdz šim cilvēka nagos tika atrasti tikai tādi antimikrobie peptīdi kā ketelīcidīni [Dorschner, 2004], turklāt tika pētīti veselie nagi. Plašāki pētījumi par antimikrobo peptīdu izdali pie patogēno sēnīšu infekcijas veikti tikai sakarā ar ādu vai gļotādu [Jensen, 2007; Kawai, 2006].

Cilvēka mutes gļotādas epitēlijs pret *Candida famata* infekciju lielos daudzumos uz savas virsmas ekspresē hBD-1, hBD-2 un hBD-3. Savukārt hBD-4 ir atrodams samazinātā daudzumā. Interesanti, ka infekcijas sākuma periodā hBD-4 mRNA palielinās, bet pie ilgāka kontakta perioda ar mikroorganismu vērojama tieši pretēja reakcija – tā daudzums samazinās [Bahri, 2010].

Mūsu pētījumā tika noteikta cilvēka defensīnu 2, 3 un 4 klātbūtne onihomikozes skartos nagos. Pārlicinoši liela atšķirība starp pētāmiem un kontroles grupas nagiem tika iegūta tieši hBD-2. Šo AMP onihomikozes skartos nagos konstatējām ļoti daudz struktūrās gan naga gultnes, gan arī saistaudu daļā. Kontroles grupas nagos hBD-2 netika novērots.

Līdzīgi kā mūsu pētījumā, tikai dermatofītu skartā ādā, nevis nagos tika atrasts hBD-2. Graudainā un dzeloņainā epidermas slānī bija vērojama ļoti stipra hBD-2 ekspresija [Jensen, 2007]. Ir arī citi dati par peļu defensīna-3 (Mdb3), kas tiek uzskatīts par cilvēku hBD-2 analogu, izdali, tikai pie lipopolisaharīdu stimulācijas. Mdb3 ekspresija tika noteikta ādā un gļotādā, bet lielos daudzumos mēlē un peļu pēdiņu ādā. Šim AMP tika noteikta plaša spektra aktivitāte, tostarp pret rauga sēnītēm un dermatofītiem [Jiang, 2010].

hBD-3 un hBD-4 gadījumā statistiska atšķirība starp antimikrobo peptīdu daudzumu onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos netika atrasta. Abos gadījumos defensīni nebija atrodami vai tika atrasti ļoti mazā daudzumā.

Tādējādi mūsu darbs pamato, ka onihomikozes skartā naga vienība būtiski atšķiras no veselas naga plātnītes. Slimības skartos nagos ir izteikta hiperkeratoze, ieslēgumi, ir palielināts germinatīvā slāņa biezums un akantoze, kas pamato tieši naga pārragošanās traucējumus. Onihomikozes skarto nagu dermā salīdzinājumā ar veseliem nagiem ir vairāk atrodamas hipertrofētās kolagēnās šķiedras un daudz vairāk ir izteikta vaskularizācija. Kopumā varam teikt, ka onihomikozes infekcija nagā izraisa neoangiogēzes procesu, bet nerada inervācijas pārmaiņas. Audos vēro izteiktas restrukturizācijas norises un defektīvo šūnu apoptotisko bojāeju. Kā atbilde uz sēnīšu infekciju audos notiek intensīva citokīnu produkcija, īpaši IL-6 un IL-10, un notiek dabīgo cilvēka antimikrobo peptīdu – hBD-2 izdale.

5. SECINĀJUMI

1. Sievietēm onihomikozi diagnosticē biežāk, turklāt **novecošanās** ir uzskatāma par slimības veicinošu faktoru. Saslimšanas ierosinātāji visbiežāk ir **dermatofīti**, kam seko rauga sēnes, pēdējā vietā atstājot pelējuma sēnītes.
2. Onihomikozes skarto nagu funkcionālajām vienībām visvairāk ir izteikti tieši naga **pārragošanās traucējumi**. Iepriekšminēto pamato pārmaiņas gan nagu gultnes, gan naga plātnītes struktūrās: šūnu hiperplāzija un hipertrofija, naga plātnītes sēņu ieslēgumi (cieša korelācija ieslēgumu diagnostikai ar histoķīmisko diagnostikas metodi – PAS reakciju), parakeratozes perēkļi, izteikta gultnes šūnu deģenerācija, dermas hipertrofētas kolagēnās šķiedras un neoangiogēnēze.
3. Onihomikozes skarta naga gultnē notiek intensīva cilvēka **antimikrobo peptīdu beta defensīnu-2** izdale, kas nosaka šī proteīna selektīvo līdzdalību minētās slimības patoģenēzes shēmā. Savukārt cilvēka beta defensīns-3 un cilvēka beta defensīns-4 nav saistāmi ar sēņu invāziju cilvēku nagos.
4. Līdzīgā **PGP9,5** nervšķiedru un pozitīvo struktūru atrade onihomikozes skartos un kontroles grupas nagos norāda uz inervācijas iesaistes trūkumu slimības patoģenēzē.
5. **VEGF** saturošo endoteliocītu nelielais skaits naga gultnes audos onihomikozes gadījumā tomēr ir pietiekams perēkļveida neoangiogēnēzes inducēšanai un audu išēmijas apstiprināšanai, kas norāda uz asinsvadu komponentes iesaisti slimības patoģenēzē naga vienības saistaudu daļā.
6. Maz līdz vidēji daudz **MMP-2** saturošo struktūru atrade onihomikozes skartu nagu gultnē un naga vienības saistaudos liecina par intensīviem restrukturizācijas procesiem patogēno sēnīšu skartos audos.
7. Onihomikozes gadījumā liela atsevišķu specifisku **iekaisuma citokīnu produkcija** notiek tieši nagu gultnē, kur noris visaktīvākie slimības morfopatoģenēzes procesi. No citokīniem IL-6 ir galvenais onihomikozes pro-inflamatorais, bet IL-10 – galvenais anti-inflamatorais faktors, savukārt IL-1 nav saistāms ar patogēno sēnīšu invāziju nagos.
8. Izteikts un statistiski ticams apoptotisko šūnu pieaugums onihomikozes skartās naga vienībās, īpaši nagu gultnes audos, pamato **programmētās šūnu nāves procesa** intensifikāciju kā

kompensācijas mehānismu defektīvo un nepilnvērtīgo šūnu likvidācijai naga funkcionālajā vienībā.

9. **Statistiski ticamas korelācijas** starp onihomikozes smagumu un hBD-2 pozitīvo struktūru daudzumu audos, kā arī starp pacientu vecumu un IL-10 saturošu struktūru daudzumu naga audos pamato **onihomikozes klīniskā novērtējuma indeksu un vecumu** kā imūnās audu atbildes modulētājus / inducētājus tieši šai slimībai.

PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Publikācijas – raksti (4)

1. **Murashko O.**, Kisis J., Kroica J. Causative agents of onychomycosis in Latvia // Dermatovenerologie, 2009; 54 (1): 16–18.
2. **Zaikovska O.**, Kisis J., Pilmane M. Defensins and cytokins in nail unit affected by onychomycosis: a pilot study // Papers on Anthropology XXII, 2013; 225–233.
3. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Ķīsis J. Nagu patomorfoloģiskās pārmaiņas onihomikozes gadījumā // RSU Zinātniskie raksti 2013, 2014: 274–281.
4. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Kisis J. Morphopathological aspects of healthy nails and nails affected by onychomycosis // Mycoses, 2014; 57(9): 531–536.

Vadlīnijas (1)

Onihomikozes praktiskās rekomendācijas, piedalījos kā līdzautors. Pieņemtas Rīgas Stradiņa universitātes Infektoloģijas un dermatoloģijas katedras sēdē 2014. gada 11. februārī.

Tēzes par pētījuma tēmu Latvijā (7)

1. **Muraško O.**, Ķīsis J. *Onihomikoze un D vitamīna daudzums organismā*. Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konference, 2010, 18.–19. marts: 143.
2. **Muraško O.**, Ķīsis J. *Folliculitis mycotica*. Baltic journal of dermatology, 2011 (1): 27.
3. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Ķīsis J. *Onihomikozes skarta naga imūnhistoķīmiskais izmeklējums*. Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konference, 2013, 21.–22. marts: 179.
4. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Ķīsis J. *Onihomikozes morfoloģiskās diagnostikas metodes*. Latvijas ārstu kongress, 2013.
5. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Kisis J. *The presence of antimicrobial peptides in onychomycosis affected nails*. Baltic Morphology VII Scientific conference, 2013, November 7–9: 54.

6. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Ķīsis J., Nazarovs J. *Iekaisuma un audu remodelācijas procesi onihomikozes skartos nagos*. Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konference, 2014, 10.–11. aprīlis: 205.
7. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Ķīsis J. *Onihomikozes skartu nagu histoloģisks novērtējums un apasiņošanas un inervācijas īpatnības*. Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konference, 2015, 26.–27. marts: 213.

Tēzes par pētījuma tēmu ārzemēs (4)

1. **Murashko O.**, Kisis J., Kroica J. *Causative agents of onychomycosis in Latvia*. 6th European Academy of Dermatology and Venereology Spring Symposium, 2009: 48.
2. **Murasko O.**, Pilmane M., Kisis J. *The morphology of nails affected by onychomycosis and antimicrobial peptides*. The abstract book of Baltic Morphology VI, September 22–23, 2011: 33.
3. **Zaikovska O.**, Kisis J., Pilmane M. *Mycosis and psoriasis – similar and different*. European Academy of Dermatology and Venereology 21st congress, 2012: 107.
4. **Zaikovska O.**, Pilmane M., Kisis J. *Morphology and immunohistochemical examination of nails affected by onychomycosis*. European Academy of Dermatology and Venereology 22st congress, 2013: 96.

Uzstāšanās par publikācijas tēmu Latvijā (7)

1. 2010. g. 17. marts – mutiska uzstāšanās ar darbu “Onikomikozes ierosinātāji Latvijā” Latvijas Dermatovenerologu asociācijas sēdē.
2. 2010. g. 18.–19. marts – stenda referāts “Onihomikoze un D vitamīna daudzums organismā” Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konferencē.
3. 2013. g. 21. –22. marts – stenda referāts “Onihomikozes skarta naga imūnhistoķīmiskais izmeklējums” Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konferencē.
4. 2013. g. 19. –21. septembris – stenda referāts “Onihomikozes morfoloģiskas diagnostikas metodes” Latvijas ārstu 7. kongresā.

5. 2013. g. 7. –9. novembris – stenda referāts “*The presence of antimicrobial peptides in onychomycosis affected nails*” Baltic Morphology VII Scientific conference.
6. 2014. g. 10.–11. aprīlis – stenda referāts “*Iekaisuma un audu remodelācijas procesi onihomikozes skartos nagos*” Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konferencē.
7. 2015. g. 26.-27. marts – stenda referāts “*Onihomikozes skartu nagu histoloģisks novērtējums un apasiņošanas un inervācijas īpatnības*” Rīgas Stradiņa universitātes zinātniskā konferencē.

Uzstāšanās par publikācijas tēmu ārzemēs (4)

1. 2009. g. 23. –26. aprīlis – mutiska uzstāšanās ar darbu “*Causative agents of onychomycosis in Latvia*” 6th European Academy of Dermatology and Venereology Spring Symposium Bukarestē, Rumānijā.
2. 2011. g. 22. –23. septembris – mutiska uzstāšanās ar darbu “*The morphology of nails affected by onychomycosis and antimicrobial peptides*” Baltic Morphology VI, Tartu, Igaunijā.
3. 2012. g. 27. –30. septembris – mutiska uzstāšanās ar darbu “*Mycosis and psoriasis – similar and different*” un sēdes vadītāja simpozijā “Fungal skin and scalp infections” European Academy of Dermatology and Venereology 21. kongresā Prāgā, Čehijā.
4. 2013. g. 2.–6. oktobris – stenda referāts “*Morphology and immunohistochemical examination of nails affected by onychomycosis*” European Academy of Dermatology and Venereology 22. kongresā Stambulā, Turcijā.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

Angļu valodā

1. Abiko Y., Jinbu Y., Noguchi T., et al. Upregulation of human beta-defensin 2 peptide expression in oral lichen planus, leukoplakia and candidiasis. An immunohistochemical study // *Pathol Res Pract*, 2002; 198(8): 537–542.
2. Abuzahra F., Spöler F., Först M., et al. Pilot study: optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic perspective for real time visualisation of onychomycosis // *Mycoses*, Jul 2010; 53(4): 334–339.
3. Abdullah L., Abbas O. Common nail changes and disorders in older people. Diagnosis and management // *Canadian Family Physician*, Feb 2011; (57): 2173–2181.
4. Achterman R. R., White T. C. Dermatophytes // *Curr Biol*, Jul 8 2013; 23(13): 551-2
5. Adrain C., Creagh E. M., Martin S. J. Apoptosis-associated release of Smac/DIABLO from mitochondria requires active caspases and is blocked by Bcl-2 // *EMBO J*, Dec 2001; 20(23): 6627–6636.
6. Alekseeva L., Huet D., Féménia F., et al. Inducible expression of beta defensins by human respiratory epithelial cells exposed to *Aspergillus fumigatus* organisms // *BMC Microbiol*, Feb 2009; 11(9): 33.
7. Altman D. G. Statistics with confidence. London, BMJ, 2000.
8. Apolinar E., Rowe W. F. Examination of human fingernail ridges by means of polarized light // *J Forensic Sci*, Jan 1980; 25(1): 154–161.
9. André J., Sass U., Richert B., Theunis A. Nail pathology // *Clin Dermatol*, Sep–Oct 2013; 31(5): 526–539.
10. Arnold R., Seifert M., Asadullah K., Volk H. D. Crosstalk between keratinocytes and T lymphocytes via Fas/Fas ligand interaction: modulation by cytokines // *J Immunol*, Jun 15 1999; 162(12): 7140–7147.
11. Bahri R., Saidane-Mosbahi D., Rouabhia M. *Candida famata* modulates toll-like receptor, beta-defensin and proinflammatory cytokine expression by normal human epithelial cells // *J Cell Physiol*, Jan 2010; 222(1): 209–218.
12. Baran R., de Berker David A. R., Holzberg M., Thomas L. Baran and Dawber's diseases of the nails and their management, 4th Edition. Wiley-Blackwell, July 2012.
13. Baran R. The nail in the elderly // *Clin Dermatol*, Jan–Feb 2011; 29(1): 54–60.
14. Barber K., Barber J. Onychomycosis: therapy directed by morphology and mycology // *Skin Therapy Lett*, Jan 2009; 14(1): 1–2.
15. Boveland S. D., Moore P. A., Mysore J., et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases-2 and -9, macrophage inflammatory protein-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases-1 and -2 in normal, purulonecrotic and fungal infected equine corneas // *Vet Ophthalmol*, Mar 2010; 13(2): 81–90.
16. Brocker C., Thompson D., Matsumoto A., et al. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family // *Hum Genomics*, Oct 2010; 5(1): 30–55.
17. Bröker L. E., Kruyt F. A., Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review // *Clin Cancer Res*, May 12 2005; 11(9): 3155–3162.
18. Campos M. R., Russo M., Gomes E., Almeida S. R. Stimulation, inhibition and death of macrophages infected with *Trichophyton rubrum* // *Microbes Infect*, Feb 2006; 8(2): 372–379.
19. Chang A., Wharton J., Tam S., et al. A modified approach to the histologic diagnosis of onychomycosis // *J Am Acad Dermatol*, 2007; 57: 849–855.
20. Chamorro C. I., Weber G., Grönberg A., et al. The human antimicrobial peptide LL-37 suppresses apoptosis in keratinocytes // *J Invest dermatol*, 2009; 129: 937–944.

21. Charif M. A., Elewski B. E. A historical perspective on onychomycosis // *Dermatologic Therapy*, 1997; 3: 43–45.
22. Cohen J. L., Scher R. K., Pappert A. S. The nail and fungus infections // Elewski BE, ed. *Cutaneous fungal infections*. New York: Igaku-Shoin, 1992; 106–123.
23. Christensen R. Analysis of variance. Design and Regression. Applied statistical methods. London, Chapman & Hall, 1996.
24. Dahdah M., Scher R. Onychomycosis – an overview // *Mycoses*, 2008; 46 (11–12): 496–505.
25. Dauch J. R., Lindblad C. N., Hayes J. M., et al. Three-dimensional imaging of nociceptive intraepidermal nerve fibers in human skin biopsies // *J Vis Exp*, Apr 29 2013; (74): e50331.
26. Day I. N., Thompson R. J. UCHL1 (PGP 9.5): neuronal biomarker and ubiquitin system protein // *Prog Neurobiol*, Mar 2010; 90(3): 327–362.
27. De Berker D. Nail anatomy // *Clinics in Dermatology*, 2013; 31: 509–515.
28. Diamantis A., Magiorkinis E., Sakorafas G. H., Androutsos G. A brief history of apoptosis: from ancient to modern times // *Onkologie*, Dec 2008; 31(12): 702–706.
29. Donnarumma G., Paoletti I., Buommino E., et al. Malassezia furfur induces the expression of beta-defensin-2 in human keratinocytes in a protein kinase C-dependent manner // *Arch Dermatol Res*, Apr 2004; 295(11): 474–481.
30. Dorschner R., Lopez-Garcia B., Massie J., et al. Innate immune defense of the nail unit by antimicrobial peptides // *J Am Acad Dermatol*, Mar 2004; 50(3): 343–348.
31. Elewski B. E., Charif M. A. Prevalence of onychomycosis in patients attending a dermatology clinic in north eastern Ohio for other conditions // *Arch Dermatol*, 1997; 133: 1172–1173.
32. Elewski B. E. Onychomycosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Management // *Clin Microbiol Rev*, Jul 1998; 11(3): 415–429.
33. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death // *Toxicol Pathol*, 2007; 35(4): 495–516.
34. Espinosa V., Rivera A. Cytokines and the regulation of fungus-specific CD4 T cell differentiation // *Cytokine*, Apr 2012; 58(1): 100–106.
35. Faergemann J., Baran R. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of onychomycosis // *Br J Dermatol*, 2003; 149(Suppl): 1–4.
36. Faergemann J., Correia O., Nowicki R., Ro B. I. Genetic predisposition-understanding underlying mechanisms of onychomycosis // *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Sep 2005; 19 (1): 17–19.
37. Fujimoto M., Nakano M., Terabe F., et al. The influence of excessive IL-6 production in vivo on the development and function of Foxp3+ regulatory T cells // *J Immunol*, Jan 1 2011; 186(1): 32–40.
38. Gabay C., Lamacchia C., Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases // *Nat Rev Rheumatol*, Apr 2010; 6(4): 232–241.
39. García J. R., Krause A., Schulz S., et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity // *FASEB J*, Aug 2001; 15(10): 1819–1821.
40. Gasparoto T. H., Gaziri L. C., Burger E., et al. Apoptosis of phagocytic cells induced by Candida albicans and production of IL-10 // *FEMS Immunol Med Microbiol*, Oct 1 2004; 42(2): 219–224.
41. Gautret P., Rodier M. H., Kauffmann-Lacroix C., Jacquemin J. L. Case report and review. Onychomycosis due to Candida parapsilosis // *Mycoses*, 2000; 43(11–12): 433–435.
42. Grover C., Nanda S., Reddy B., Chaturvedi K. U. Nail biopsy: assessment of indications and outcome // *Dermatol Surg*, Feb 2005; 31(2): 190–194.
43. Grover C., Khurana A. Onychomycosis: newer insights in pathogenesis and diagnosis // *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, May–Jun 2012; 78(3): 263–270.
44. Gupta A. K., Jain H. C., Lynde C. W., et al. Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter Canadian survey of 15,000 patients // *J Am Acad Dermatol*, 2000; 43: 244–248.
45. Habif T. P. Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy. Fifth edition, Mosby, 2009.
46. Haneke E. Nail surgery // *Eur J Dermatol*. 2000; 10: 237–241.
47. Haneke E. Surgical anatomy of the nail apparatus // *Dermatol Clin*, Jul 2006; 24(3): 291–296.
48. Haneke E. Advanced Nail Surgery // *Cutan Aesthet Surg*, Sep–Dec 2011; 4(3): 167–175.

49. Hamsa A. R., Sherif S. A., Rasha T. A., et al. Dealing with dysmorphic nail problems // *Egyptian Dermatology Online Journal*, June 2006; 2(1): 4.
50. Hay R. J. Fungal skin infections // *Arch Dis Child*, Sep 1992; 67(9): 1065–1067.
51. Hay R. J. Literature review. Onychomycosis // *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Sep 2005; 19 Suppl 1: 1–7.
52. Hay R. J., Garduno J. I. Review of antifungal therapy and the severity index for assessing onychomycosis: part I // *J Dermatolog Treat*, 2008; 19(2): 72–81.
53. Hay R. J., Baran R. Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification // *J Am Acad Dermatol*, Dec 2011; 65(6): 1219–1227.
54. Heinrich P. C., Behrmann I., Haan S., et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation // *Biochem J*, Aug 15 2003; 374(Pt 1): 1–20.
55. Heikkila H., Stubb S. The prevalence of onychomycosis in Finland // *Br J Dermatol*, 1995; 133: 699–703.
56. Hsu S. M., Raine L., Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics // *Am J Clin Pathol*, Jun 1981; 75(6): 816–821.
57. Itoh K., Suzuki K., Bise K., et al. Apoptosis in the basal ganglia of the developing human nervous system // *Acta Neuropathol*, Feb 2001; 101(2): 92–100.
58. Yamasaki Kenshi L., Gallo R. Antimicrobial peptides in human skin disease // *Eur J Dermatol*, 2008; 18(1): 11–21.
59. Järv H., Naaber P., Kaur S., et al. Toenail onychomycosis in Estonia // *Mycoses*, Feb 2004; 47(1–2): 57–61.
60. Jiang Y., Wang Y., Wang B., et al. Antifungal activity of recombinant mouse beta-defensin 3 // *Lett Appl Microbiol*, May 2010; 50(5): 468–473.
61. Jensen J. M., Pfeiffer S., Akaki T., et al. Barrier function, epidermal differentiation, and human beta-defensin 2 expression in tinea corporis // *J Invest Dermatol*, Jul 2007; 127(7): 1720–1727.
62. Johansson O., Wang L., Hilliges M., Liang Y. Intraepidermal nerves in human skin: PGP9,5 immunohistochemistry with special reference to the nerve density in skin from different body regions // *J Peripher Nerv Syst*, 1999; 4(1): 43–52.
63. Kasprzak A., Zabel M., Biczysko W. Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours // *Pol J Pathol*, 2007; 58(1): 23–33.
64. Karimzadegan-Nia M., Mir-Amin-Mohammadi A., Bouzari N., Firooz A. Comparison of direct smear, culture and histology for the diagnosis of onychomycosis // *Australas J Dermatol*, Feb 2007; 48 (1): 18–21.
65. Karkkainen M. J., Petrova T. V. Vascular endothelial growth factor receptors in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis // *Oncogene*, Nov 20 2000; 19(49): 5598–5605.
66. Katsambas A., Abeck D., Haneke E., et al. The effects of foot disease on quality of life: results of the Achilles Project // *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Mar 2005; 19(2): 191–195.
67. Kawai M., Yamazaki M., Tsuboi R., et al. Human beta-defensin-2, an antimicrobial peptide, is elevated in scales collected from tinea pedis patients // *Int J Dermatol*, Nov 2006; 45(11): 1389–1390.
68. Kawai M., Suzuki T., Hiruma M., Ikeda S. A retrospective cohort study of tinea pedis and tinea unguium in patients in a psychiatric hospital // *Med Mycol J*, 2014; 55(2): E35–41.
69. Kerr J. F., Wyllie A. H., Currie A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *Br J Cancer*, Aug 1972; 26(4): 239–257.
70. Kerr J. F. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology*, Dec 27 2002; 181–182.
71. Kimura A., Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance // *Eur J Immunol*, Jul 2010; 40(7): 1830–1835.
72. Kurokawa C. S., Araujo J. P. Jr., Soares A. M., et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines produced by human monocytes challenged in vitro with *Paracoccidioides brasiliensis* // *Microbiol Immunol*, 2007; 51(4): 421–428.

73. Lai Y., Gallo R. AMPed Up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense // *Clin Immunol*, Apr 2010; 135(1): 1–11.
74. Lauweryns J. M., Van Ranst L. Protein gene product 9.5 expression in the lungs of humans and other mammals. Immunocytochemical detection in neuroepithelial bodies, neuroendocrine cells and nerves // *Neurosci Lett*, Mar 10 1988; 85(3): 311–316.
75. Lillie R. D., Pizzolato P., Donaldson P. T. Nuclear stains with soluble metachrome metal mordant dye lakes. The effect of chemical endgroup blocking reactions and the artificial introduction of acid groups into tissues // *Histochemistry*, Oct 7 1976; 49(1): 23–35.
76. Lone R., Bashir D., Ahmad S., Syed A., Khurshid S. A study on clinico-mycological profile, etiological agents and diagnosis of onychomycosis at a government medical college hospital in kashmir // *J Clin Diagn Res*, Sep 2013; 7(9): 1983–1985.
77. MacFarlane D. F., Scher R. K. Nail surgery and malignant tumors of the nail unit skin cancer management // *A Practical Approach*, 2010: 191–202.
78. Martin B. F., Platts M. M. A histological study of the nail region in normal human subjects and in those showing splinter haemorrhages of the nail // *J Anat*, Jul 1959; 93: 323–330.
79. Martin B. Nail histopathology // *Actas Dermosifiliogr*, Sep 2013; 104(7): 564–578.
80. Marangon A. V., Svidzinski T. I., Salci T. P., et al. Metabolic extract of *Fusarium oxysporum* induces histopathologic alterations and apoptosis in the skin of Wistar rats // *Int J Dermatol*, Jul 2009; 48(7): 697–703.
81. McCawley L. J., Matrisian L. M. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! // *Curr Opin Cell Biol*, Oct 2001; 13(5): 534–540.
82. McManus J. F. Periodic acid routine applied to kidney // *Amer J Path*, 1948; 24: 643.
83. Mitchell I. D., Brice A. J. Investigations into parametric analysis of data from in vivo micronucleus assays by comparison with non-parametric methods // *Mutat Res*, Jan–Feb 1986; 159(1–2): 139–146.
84. Mitchell B. M., Wu T. G., Chong E. M., et al. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in experimental corneal injury and fungal keratitis // *Cornea*, Jun 2007; 26(5): 589–593.
85. Moreno-Coutiño G., Toussaint-Caire S., Arenas R. Clinical, mycological and histological aspects of white onychomycosis // *Mycoses*, Mar 2010; 53(2): 144–147.
86. Murashko O., Kisis J., Kroica J. Causative agents of onychomycosis in Latvia // *Dermatovenerologie*, 2009; 54(1): 16–18.
87. Nagar R., Nayak C. S., Deshpande S., et al. Subungual hyperkeratosis nail biopsy: a better diagnostic tool for onychomycosis // *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Sep–Oct 2012; 78(5): 620–624.
88. Norton L. A., Scher R. K., Daniel C. R. *Nails: Therapy, Diagnosis, Surgery*. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 2005: 262–275.
89. Negoescu A., Guillermet C., Lorimier P., et al. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity // *Biomed Pharmacother*, 1998; 52(6): 252–258.
90. Neely J. G., Hartman J. M., Forsen J. W. Jr., Wallace M. S. *Tutorials in clinical research: VII. Understanding comparative statistics (contrast) – part B: application of T-test, Mann-Whitney U, and chi-square* // *Laryngoscope*, Oct 2003; 113(10): 1719–1725.
91. Nishikaku A. S., Ribeiro L. C., Molina R. F., et al. Matrix metalloproteinases with gelatinolytic activity induced by *Paracoccidioides brasiliensis* infection // *Int J Exp Pathol*, Oct 2009; 90(5): 527–537.
92. Nenoff P., Krüger C., Ginter-Hanselmayer G., Tietz H. J. *Mycology – an update. Part 1: Dermatophytes: Causative agents, epidemiology and pathogenesis* // *J Dtsch Dermatol Ges*, Mar 2014; 12(3): 188–210.
93. Ok M., Latgé J. P., Baeuerlein C., et al. Immune responses of human immature dendritic cells can be modulated by the recombinant *Aspergillus fumigatus* antigen Asp1 // *Clin Vaccine Immunol*, Oct 2009; 16(10): 1485–1492.
94. Olsson A. K., Dimberg A., Kreuger J., Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling – in control of vascular function // *Nat Rev Mol Cell Biol*, May 2006; 7(5): 359–371.

95. Ouyang W., Rutz S., Crellin N. K., et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease // *Annu Rev Immunol*, 2011; 29: 71–109.
96. Pärnänen P., Meurman J. H., Sorsa T. The effects of *Candida* proteinases on human proMMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 // *Mycoses*, Jul 2011; 54(4): 325–330.
97. Perrin C. The 2 clinical subbands of the distal nail unit and the nail isthmus. Anatomical explanation and new physiological observations in relation to the nail growth // *Am J Dermatopathol*, Jun 2008; 30(3): 216–221.
98. Pföhler C., Hollemeyer K., Heinzle E., et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a new tool in diagnostic investigation of nail disorders? // *Exp Dermatol*, Oct 2009; 18(10): 880–882.
99. Pilmane M., Shine J., Iismaa T. P. Distribution of galanin immunoreactivity in the bronchi of humans with tuberculosis // *Ann N Y Acad Sci*, Dec 21 1998; 863: 445–449.
100. Pilmane M., Engelis A., Mozgis D. Neuropeptides in colon of children with Hirshprung disease // *International Journal of Surgery in Childhood*, 1999; 7(4): 223–227.
101. Pires C. A., Cruz N. F., Lobato A. M., et al. Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis // *An Bras Dermatol*, Mar–Apr 2014; 89(2): 259–264.
102. Piérard G. E., Quatresooz P., Arrese J. E. Spotlight on nail histomycology // *Dermatol Clin*, Jul 2006; 24(3): 371–374.
103. Pivarcsi A., Nagy I., Kemeny L. Innate immunity in the skin: how keratinocytes fight against pathogen // *Current immunology reviews*, 2005, 1: 29–42.
104. Ramsdale M. Programmed cell death in pathogenic fungi // *Biochim Biophys Acta*, Jul 2008; 1783(7): 1369–1380.
105. Reardon C. M., McArthur P. A., Survana S. K., Brotherston T. M. The surface anatomy of the germinal matrix of the nail bed in the finger // *J Hand Surg Br*, Oct 1999; 24(5): 531–533.
106. Rich P. Nail biopsy. Indications and methods // *J Dermatol Surg Oncol*, Aug 1992; 18(8): 673–682.
107. Richert B. Basic nail surgery // *Dermatol Clin*, Jul 2006; 24(3): 313–322.
108. Rigopoulos D., Larios G., Gregoriou S., Alevizos A. Acute and chronic paronychia // *Am Fam Physician*, Feb 1 2008; 77(3): 339–346.
109. Roberts D. T. Prevalence of dermatophyte onychomycosis in the United Kingdom: results of an omnibus survey // *Br J Dermatol*, 1992; 126(39): 23–27.
110. Roberts D. T., Taylor W., Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis // *Br J Dermatol*, 2003; 148(3): 402–410.
111. Rodrigues E. G., Dobroff A. S., Taborda C. P., Travassos L. R. Antifungal and antitumor models of bioactive protective peptides // *An Acad Bras Cienc*, Sep 2009; 81(3): 503–520.
112. Romano M., Sironi M., Toniatti C., et al. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment // *Immunity*, Mar 1997; 6(3): 315–325.
113. Rubins A. Clinical and immunological parallels in patients with rubromycosis. Thesis of Cand. Med. Sci. Moscow, 1981, 136
114. Ruth A. Nail drill. // *Harv Health Lett*, Mar 2007; 32(5): 6.
115. Saraste A. Morphologic criteria and detection of apoptosis // *Herz*, May 1999; 24(3): 189–195.
116. Saraste A., Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis // *Cardiovasc Res*, Feb 2000; 45(3): 528–537.
117. Sariahmetoglu M., Crawford B. D., Leon H., et al. Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation // *FASEB J*, Aug 2007; 21(10): 2486–2495.
118. Savin C., Huck S., Rolland C., et al. Multicenter evaluation of a commercial PCR-enzyme-linked immunosorbent assay Diagnostic kit (Onychodiag) for diagnosis of dermatophytic onychomycosis // *J Clin Microbiol*, April 2007; 45(4): 1205–1210.
119. Sawicki G. Intracellular regulation of matrix metalloproteinase 2 activity: new strategies in treatment and protection of heart subjected to oxidative stress // *Scientifica (Cairo)*, 2013; 2013: 130451.
120. Seebacher C., Brasch J., Abeck D., et al. Onychomycosis // *Mycoses*, Jul 2007; 50(4): 321–327.
121. Sergeev A. Y., Gupta A. K., Sergeev Y. V. The Scoring Clinical Index for Onychomycosis (SCIO index) // *Skin Therapy Lett*, 2002; 7 Suppl 1: 6–7.

122. Singh G., Haneef N. S., Uday A. Nail changes and disorders among the elderly // *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, Nov-Dec 2005; 71(6): 386–392.
123. Sigurgeirsson B., Baran R. The prevalence of onychomycosis in the global population – a literature study // *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Nov 2014; 28(11): 1480–1491.
124. Shenoy M. M., Teerthanath S., Karnaker V. K., et al. Comparison of potassium hydroxide mount and mycological culture with histopathologic examination using periodic acid-Schiff staining of the nail clippings in the diagnosis of onychomycosis // *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, May–Jun 2008; 74 (3): 226–229.
125. Scher R. K., Roenigk R. K., Roenigk H. H., Ratz J. L. *Dermatologic Surgery-Principles and Practice*. New York, NY: Marcel Dekker; 2006: 281–288.
126. Scher R. K., Rich P., Pariser D., Elewski B. The epidemiology, etiology, and pathophysiology of onychomycosis // *Semin Cutan Med Surg*, Jun 2013; 32 (2 Suppl 1): S2–4.
127. Schröder J. The role of keratinocytes in defense against infection // *Curr Opin Infect Dis*, Apr 2010; 23(2): 106–110.
128. Shibuya M., Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis // *Exp Cell Res*, Mar 10 2006; 312(5): 549–560.
129. Stern D. K., Creasey A. A., Quijije J., Lebwohl M. G. UV-A and UV-B penetration of normal human cadaveric fingernail plate // *Arch Dermatol*, Apr 2011; 147(4): 439–441.
130. Steubesand N., Kiehne K., Brunke G., et al. The expression of the beta-defensins hBD-2 and hBD-3 is differentially regulated by NF-kappaB and MAPK/AP-1 pathways in an in vitro model of *Candida esophagitis* // *BMC Immunol*, Jun 2009; 12(10): 36.
131. Stewart C. L., Rubin A. I. Update: nail unit dermatopathology // *Dermatol Ther*, Nov–Dec 2012; 25(6): 551–568.
132. Sun P. D., Davies D. R. The cystine-knot growth-factor superfamily // *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1995; 24: 269–291.
133. Sumikawa M., Egawa T., Honda I., et al. Effects of foot care intervention including nail drilling combined with topical antifungal application in diabetic patients with onychomycosis // *J Dermatol*, Jul 2007; 34(7): 456–464.
134. Szepietowski J. C., Reich A., Pacan P., et al. Evaluation of quality of life in patients with toenail onychomycosis by Polish version of an international onychomycosis-specific questionnaire // *J Eur Acad Dermatol Venereol*, Apr 2007; 21(4): 491–496.
135. Thompson R. J., Doran J. F., Jackson P., et al. PGP 9.5 – a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells // *Brain Res*, Nov 14 1983; 278(1–2): 224–228.
136. Tobin G., Luts A., Sundler F., Ekström J. Peptidergic innervation of the major salivary glands of the ferret // *Peptides*, Jul–Aug 1990; 11(4): 863–867.
137. Vélez N. F., Jellinek N. J. Simple onycholysis: a diagnosis of exclusion // *J Am Acad Dermatol*, Apr 2014; 70(4): 793–794.
138. Vender R., Lynde C., Poulin Y. Prevalence and epidemiology of onychomycosis // *J Cutan Med Surg*, Dec 10 2006; (2): 28–33.
139. Villar C. C., Chukwuedum Aniemeke J., Zhao X. R., Huynh-Ba G. Induction of apoptosis in oral epithelial cells by *Candida albicans* // *Mol Oral Microbiol*, Dec 2012; 27(6): 436–438.
140. Weber A., Wasiliew P., Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) pathway // *Sci Signal*, Jan 19 2010; 3(105).
141. Weinberg J. M., Koestenblatt E. K., Tutrone W. D., et al. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis // *J Am Acad Dermatol*, Aug 2003; 49(2): 193–197.
142. Weitzman I., Summerbell R. The Dermatophytes // *Clinical Microbiology Reviews*, Apr 1999; 240–259.
143. Werner B., Antunes A. Microscopic examination of normal nail clippings // *Dermatol Pract Concept*, Jul 31 2013; 3(3): 9–14.
144. Wilson P. O., Barber P. C., Hamid Q. A., et al. The immunolocalization of protein gene product 9.5 using rabbit polyclonal and mouse monoclonal antibodies // *Br J Exp Pathol*, Feb 1988; 69(1): 91–104.

145. Wilsmann-Theis D., Sareika F., Bieber T., et al. New reasons for histopathological nail-clipping examination in the diagnosis of onychomycosis // J Eur Acad Dermatol Venereol, Feb 2011; 25(2): 235–237.
146. Witt M., Bormann K., Gudziol V., et al. Biopsies of olfactory epithelium in patients with Parkinson's disease // Mov Disord, Apr 30 2009; 24(6): 906–914.
147. Wu H., Downs D., Ghosh K., et al. Candida albicans secreted aspartic proteases 4-6 induce apoptosis of epithelial cells by a novel Trojan horse mechanism // FASEB J, Jun 2013; 27(6): 2132–2144.
148. Wüthrich M., LeBert V., Galles K., et al. Interleukin 1 enhances vaccine-induced antifungal T-helper 17 cells and resistance against Blastomyces dermatitidis infection // J Infect Dis, Oct 1 2013; 208(7): 1175–1182.
149. Yuan X., Wilhelmus K. R. Corneal neovascularization during experimental fungal keratitis // Mol Vis, Sep 29 2009; 15: 1988–1996.
150. Zaias N. Onychomycosis // Dermatology Clinics, 1985; 3: 445–460.
151. Zahur M., Afroz A., Rashid U., Khaliq S. Dermatomycoses: Challenges and Human Immune Responses // Curr Protein Pept Sci, May 12 2014.
152. Zdanov A., Schalk-Hihi C., Gustchina A., et al. Crystal structure of interleukin-10 reveals the functional dimer with an unexpected topological similarity to interferon gamma // Structure, Jun 15 1995; 3(6): 591–601.
153. Zhong W., Yin H., Xie L. Expression and potential role of major inflammatory cytokines in experimental keratomycosis // Mol Vis, Jul 4 2009; 15: 1303–1311.
154. Zipfel P. F., Skerka C. Complement, Candida, and cytokines: the role of C5a in host response to fungi // Eur J Immunol, Apr 2012; 42(4): 822–825.

Vācu valodā

1. Nenoff P., Paasch U., Handrick W. // Hautarzt, Apr 2014; 65 (4): 337–348.
2. Nenoff P., Ginter-Hanselmayer G., Tietz H. J. Fungal nail infections – an update: Part 1: Prevalence, epidemiology, predisposing conditions, and differential diagnosis // Hautarzt, Jan 2012; 63(1): 30–38.

Latviešu valodā

1. Hartmane I., Mikažāns I. Onihomikozes un vietējie pretsēnīšu līdzekļi, to ārstēšana dermatologa un ģimenes ārsta praksē // Doctus, 2005; (1): 30–33.
2. Karls R., Ķīsis J., Žīgure S., Azarjana K., Valeine L., Zaikovska O., Lavrinoviča E., Ivanova T., Saulīte M. Onihomikozes praktiskās vadlīnijas, RSU, 2014.
3. Ķīsis J., Rone M., Briede I., Katina L. Itranola klīniskā efektivitāte un drošums, ārstējot ādas sēnīšu slimības // Latvijas Ārsts, 2004; (6): 27.
4. Krastiņš O. Statistika un ekonometrija. Mācību līdzeklis augstskolām. Rīga, KR centrālā statistikas pārvalde, 1990.
5. Lavrinoviča E. Pētījums par nagu sēnīšu slimību biežākajiem izraisītājiem // Latvijas Ārsts, 2004; (4): 44–47.
6. Teibe U., Berķis U. Varbūtības teorijas un matemātiskās statistikas elementi medicīnas studentiem. Rīga, AML/RSU, 2001.

56Interneta vietne

Avwioro G. Histochemical uses of haematoxylin – a review. JPCS (1), April–June 2011

www.arpapress.com/Volumes/JPCS/Vol1/JPCS_1_05.pdf

[skatīts 3.04.2014.].

PATEICĪBAS

Visdziļākā pateicība manai darba vadītājai profesorei Mārai Pilmanei par lielo darbu, kas tika ieguldīts šī darba tapšanā. Sirsnīgs paldies par zinātniskās domāšanas pamatu ielikšanu, padomiem un atbalstu.

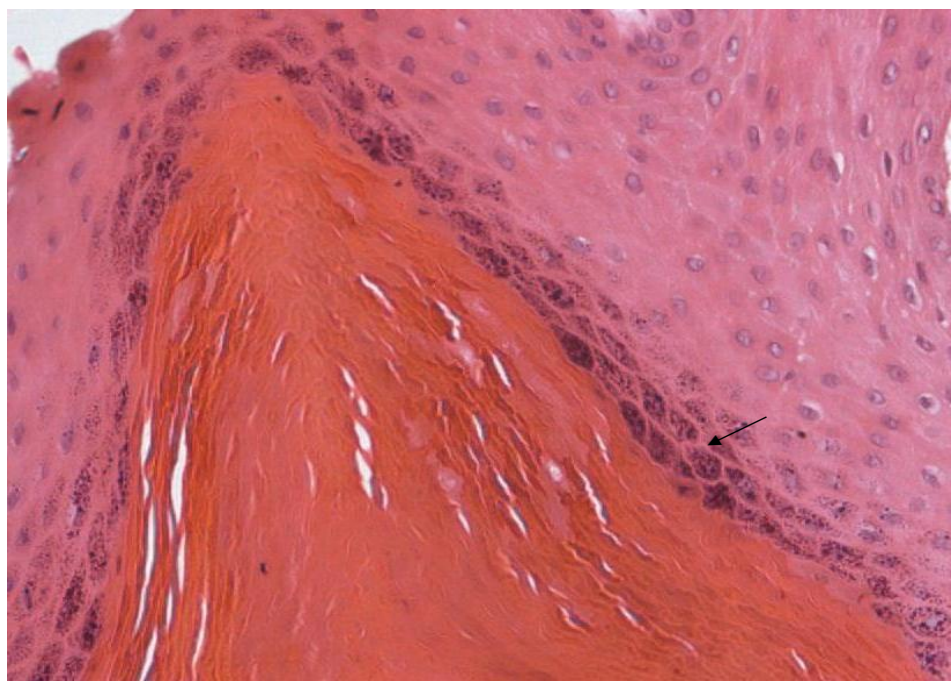
Ļoti pateicos profesoram Jānim Ķīsim, manam otram darba vadītājam, par morālo atbalstu, par palīdzību materiāla savākšanas procesā, kā arī par palīdzību onihomikozes tēmas izvēlē jau pirms vairākiem gadiem.

Liels paldies AAI laborantei Natālijai Morozai par smalko darbu, pagatavojot preparātus no nagu materiāla.

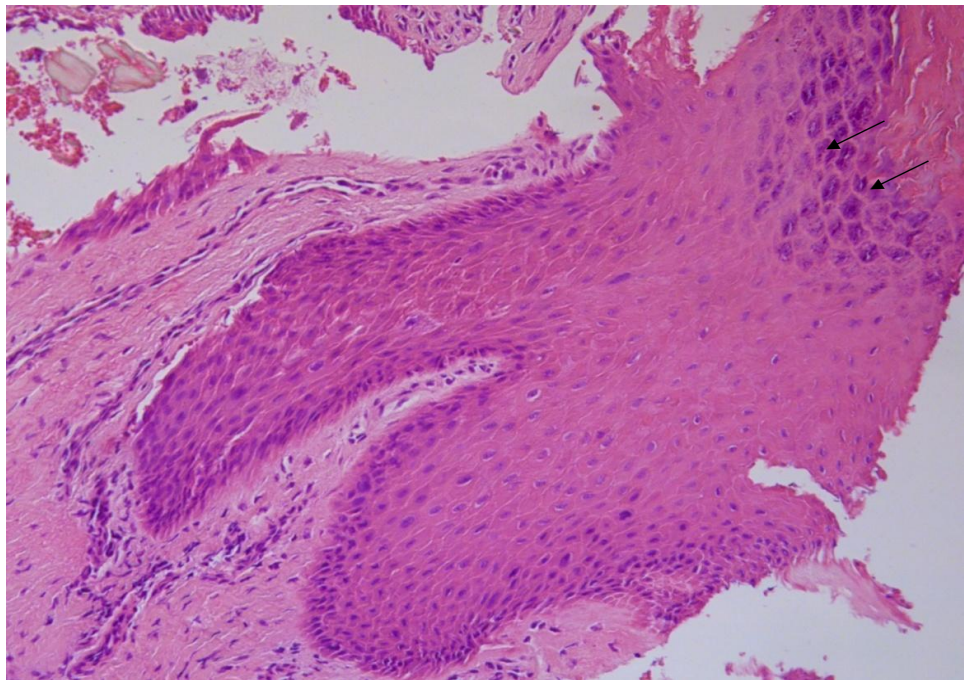
Sirsnīgi pateicos visam AAI kolektīvam par atbalstu un palīdzību.

Vislielākais paldies maniem vecākiem, kas no bērnības atbalstīja vēlmi mācīties un neapstāties pie sasniegtā. Protams, silti vārdi ir sakāmi manam vīram par izturību un daudzām, viņa izdarītām lietām, kas palīdzēja man paveikt šo darbu.

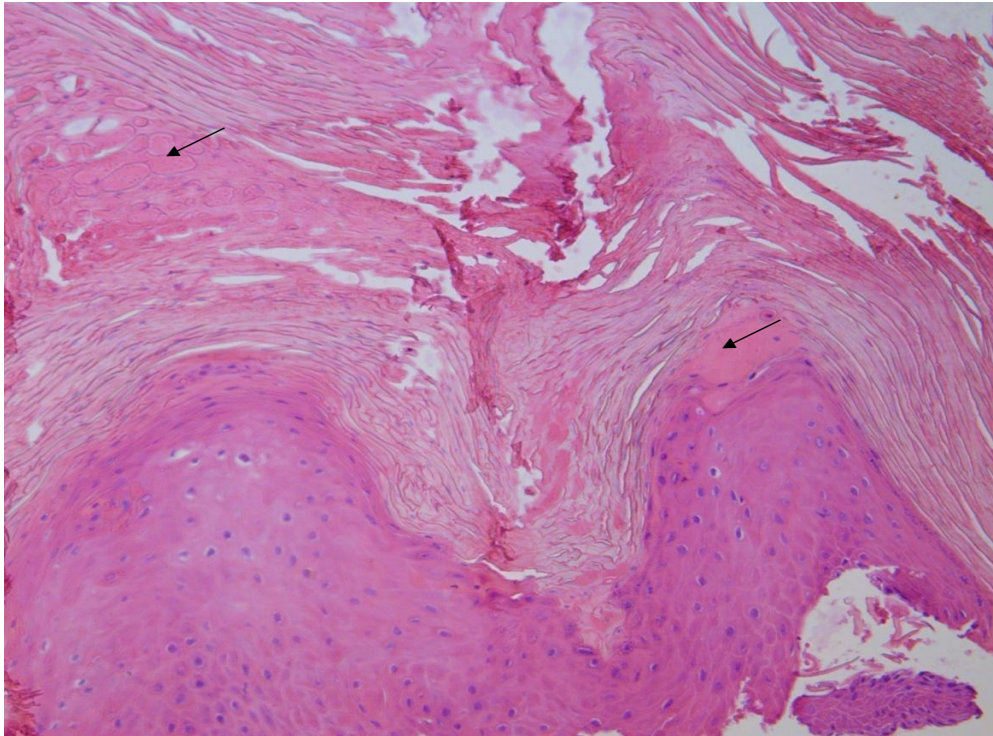
PIELIKUMI



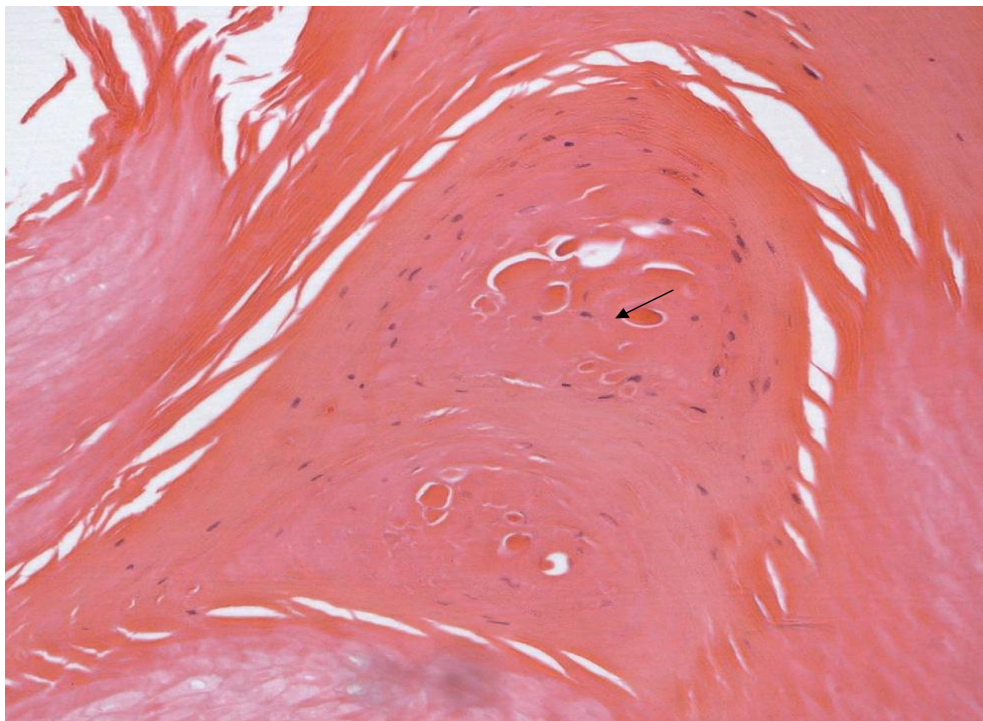
3.1. attēls. Onihomikozes skarta naga gultnes šūnu hipertrofija, perēkļaina graudainā slāņa hiperplāzija (). H/E, $\times 200$



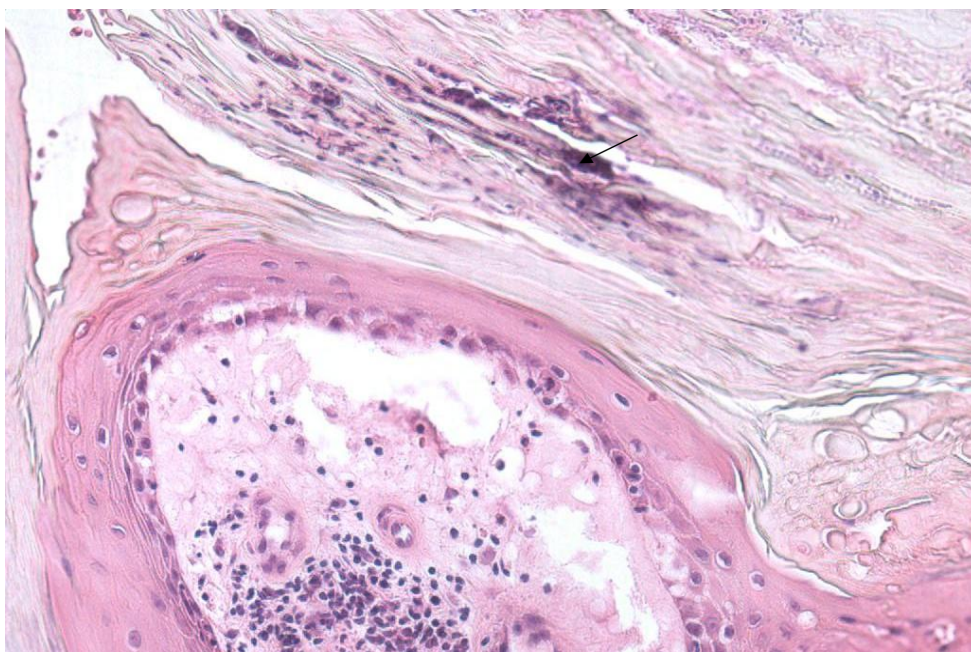
3.2. attēls. Onihomikozes skarta naga gultnes epitēlija fragments ar izteiktu šūnu hipertrofiju graudainā slānī (). H/E, $\times 200$



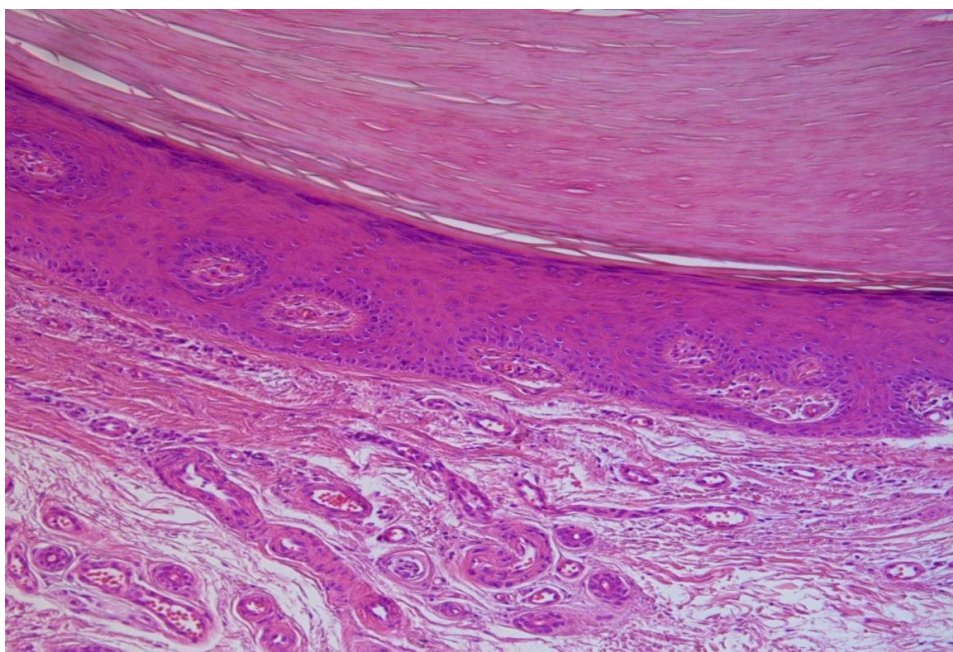
3.3. attēls. Multiplas homogēnas, acidofilas masas (struktūras) onihomikozes skartā naga plātnītē (←). H/E, × 200



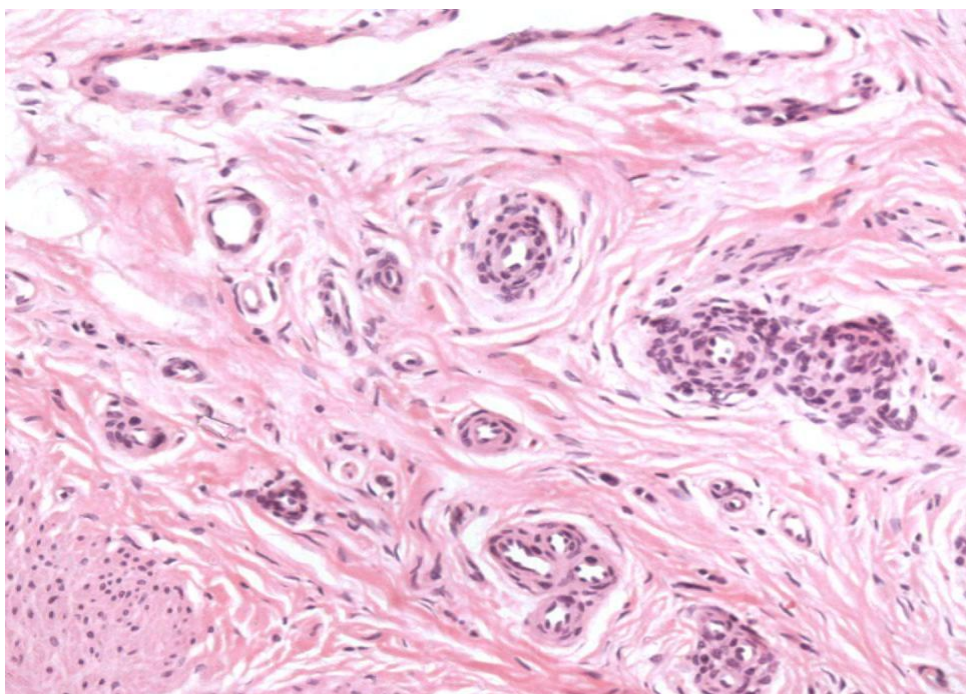
3.4. attēls. Onihomikozes skartā naga plātnītē. Parakeratozes perēklis ar multipliem ieapaļas formas homogēniem, acidofiliem ieslēgumiem (←). H/E, × 200



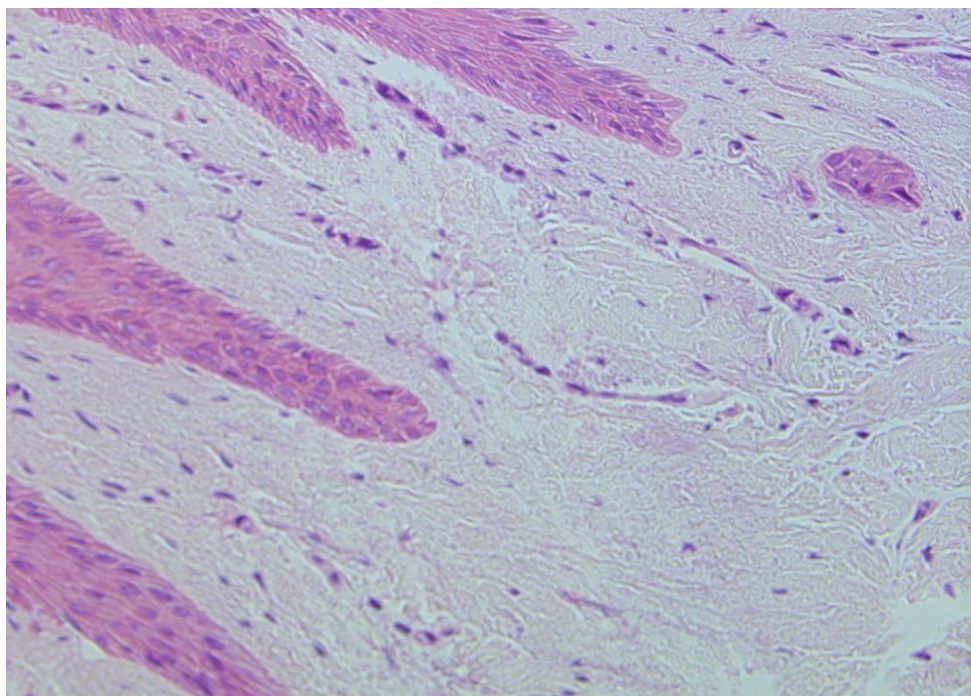
3.5. attēls. Onihomikozes skartas naga plātnītes parakeratozes un sēnīšu koloniju pērēklis (). Līdztekus naga gultnes izteiktai atrofijai redzams subepidermāls iekaisuma šūnu agregāts. H/E, $\times 200$



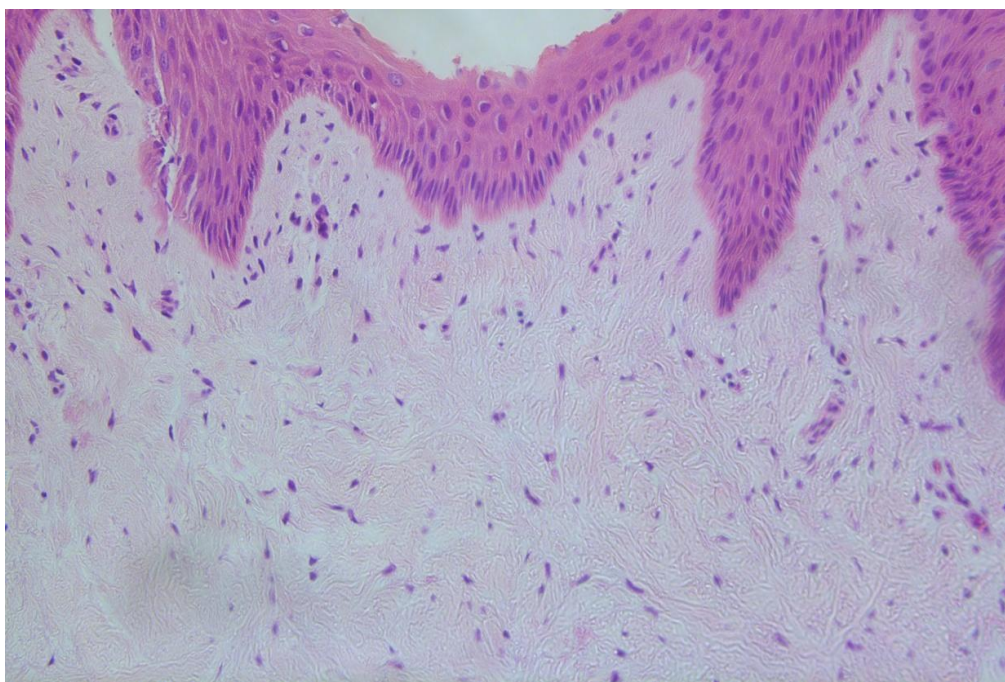
3.6. attēls. Onihomikozes skartas naga plātnītes subepidermāli izteikta asinsvadu jaunveidošanās, perivaskulāra tūska, mēreni izteikta perivaskulāra iekaisuma šūnu infiltrācija. H/E, $\times 100$



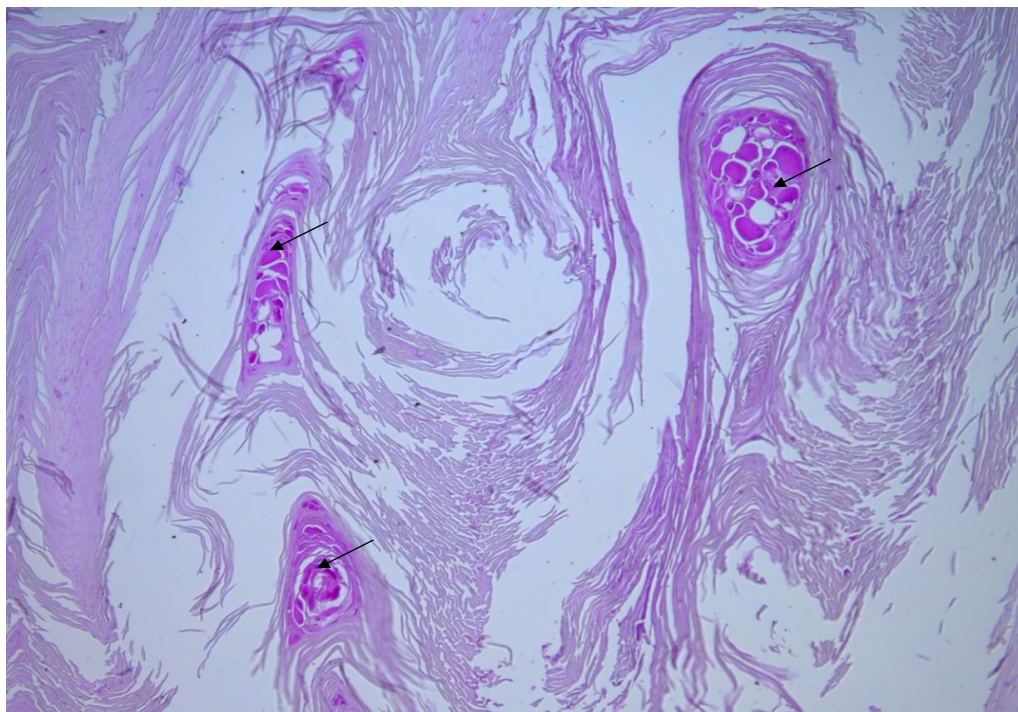
3.7. attēls. Onihomikozes skarta naga subepidermālo saistaudu neoangiogēze vienlaikus ar perivaskulāru tūsku un perēķļveida perivaskulāru iekaisuma šūnu infiltrāciju. H/E. $\times 200$



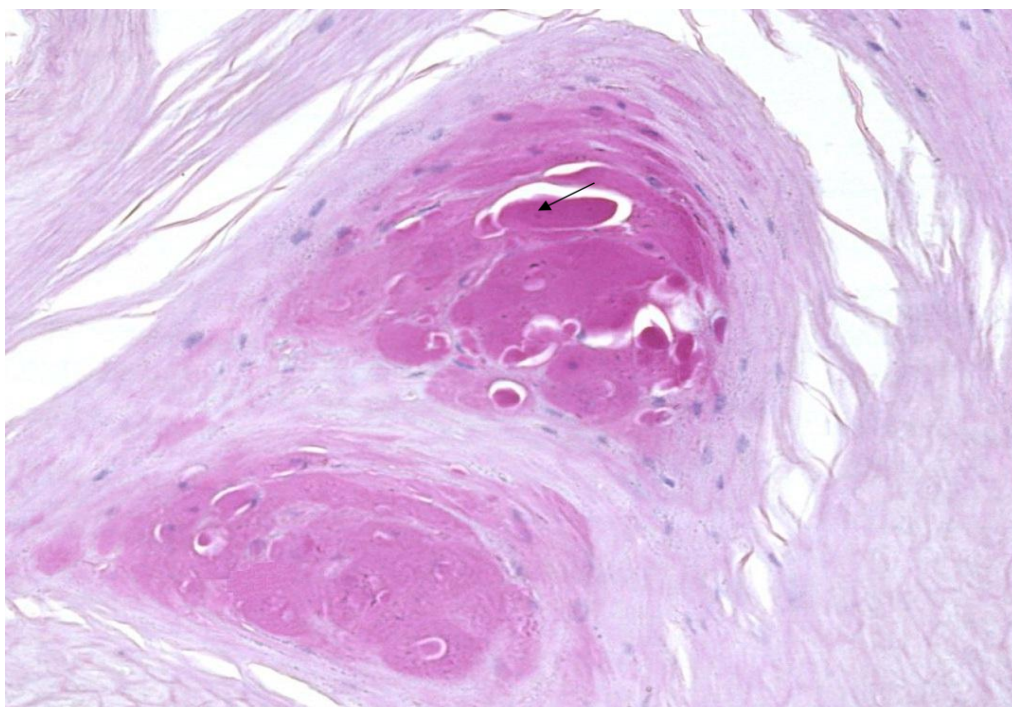
3.8. attēls. **Kontroles nags.** Zemnaga audos reti limfocīti un makrofāgi.
H/E, $\times 200$



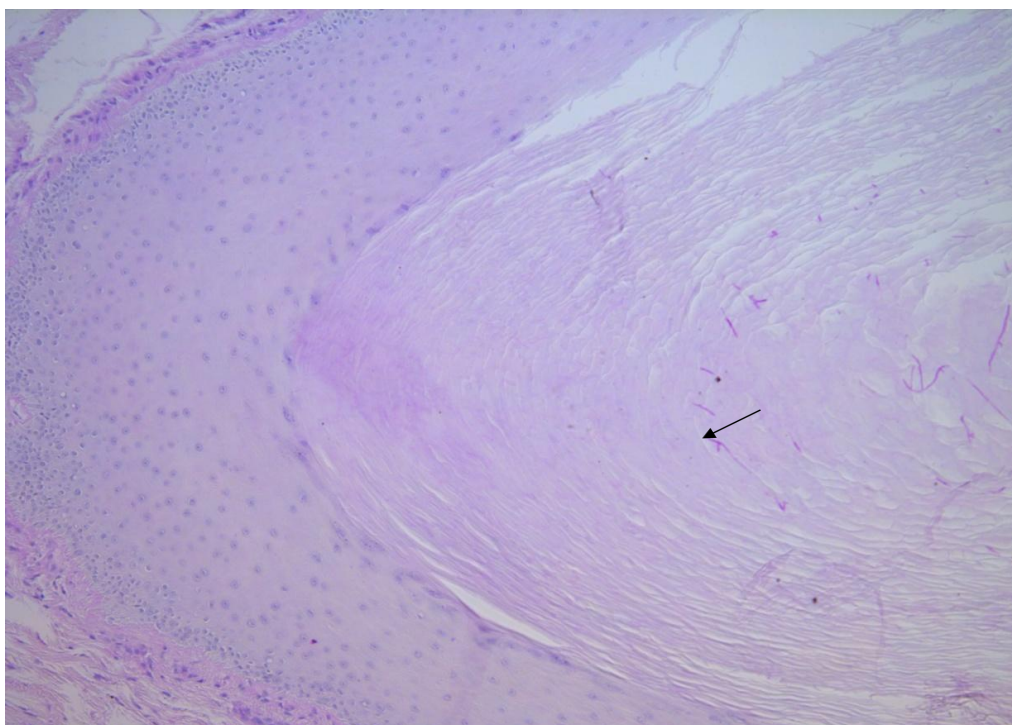
3.9. attēls. **Kontroles naga gultne ar perēkļainu akantozi.** Subepiteliālos audos reti limfocīti un makrofāgi. H/E, $\times 100$



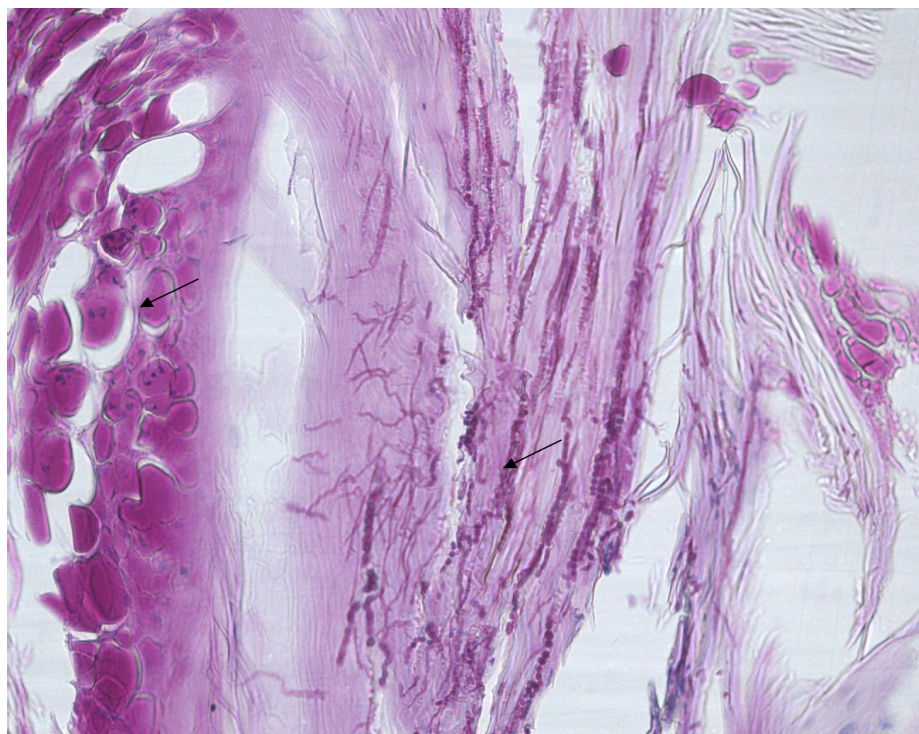
3.10. attēls. Onihomikozes skarta naga plātnīte ar PAS vāji pozitīvām ieapaļas formas homogēnām struktūrām (). PAS, $\times 100$



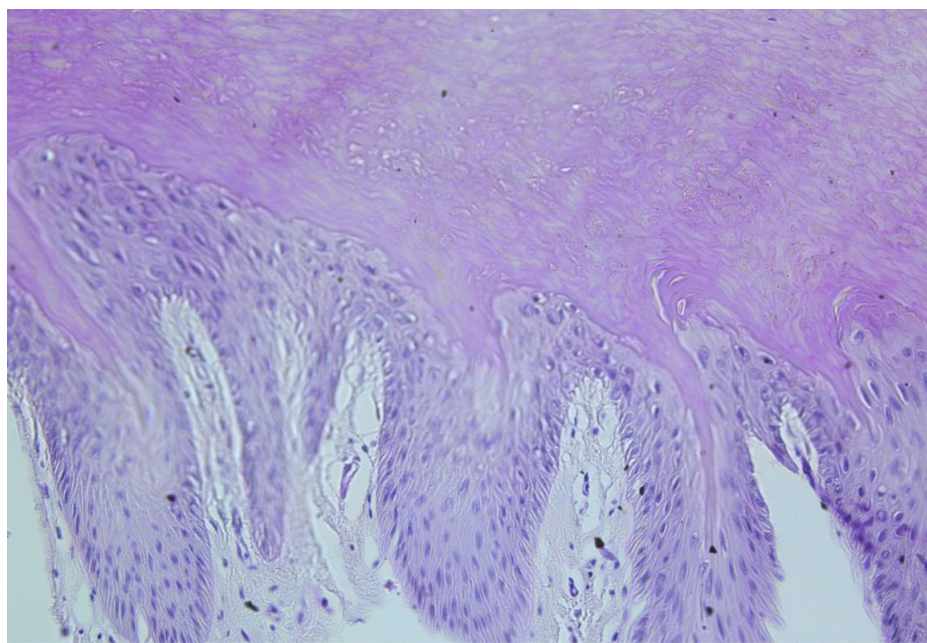
3.11. attēls. Onihomikozes skartā naga plātnītē ar ieapaļas uzbūves homogēnu PAS pozitīvu struktūru agregātiem parakeratotiska epitēlija apvidū (←). PAS, $\times 250$



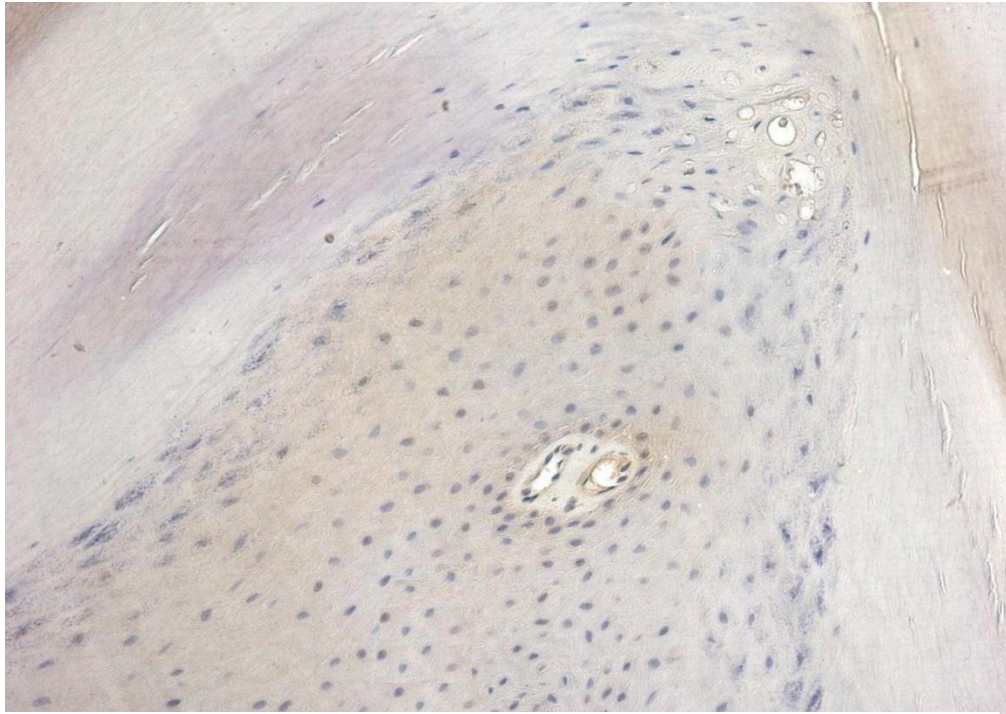
3.12. attēls. Iegarenas formas, diegveida uzbūves PAS pozitīvas sēnīšu kolonijas onihomikozes skarta naga plātnītē (←). PAS, $\times 100$



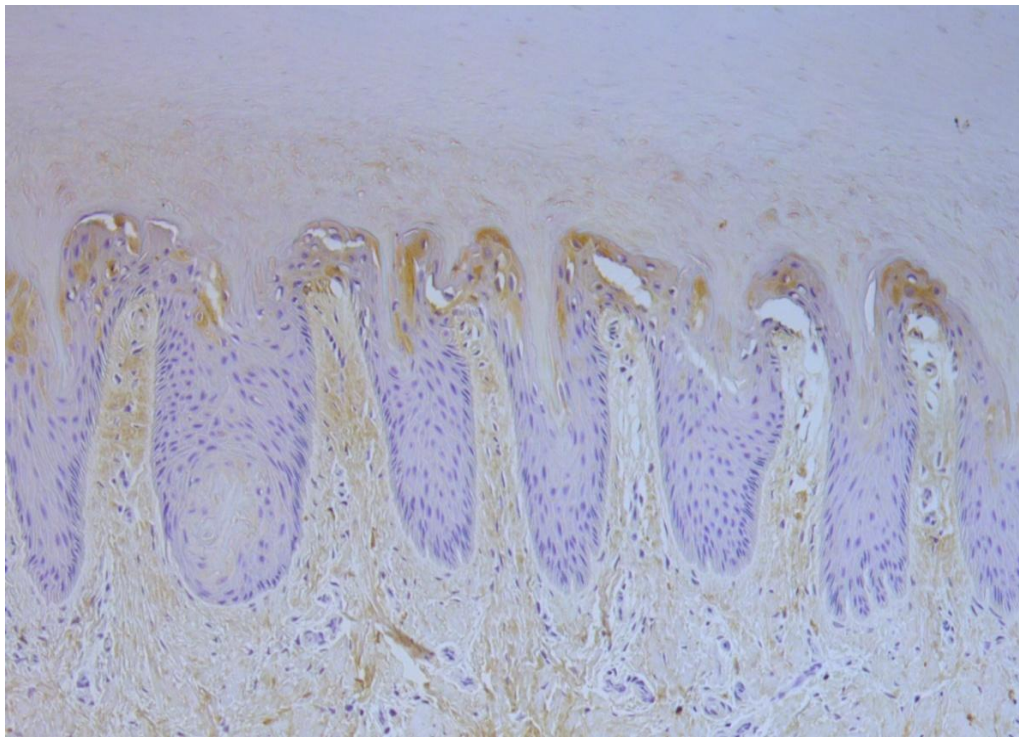
3.13. attēls. Onihomikozes skartā naga plātnītē redzamas multiplas ieapaļas uzbūves PAS pozitīvas homogēnas sporas un hifas dažādās attīstības fāzēs (←). PAS, $\times 250$



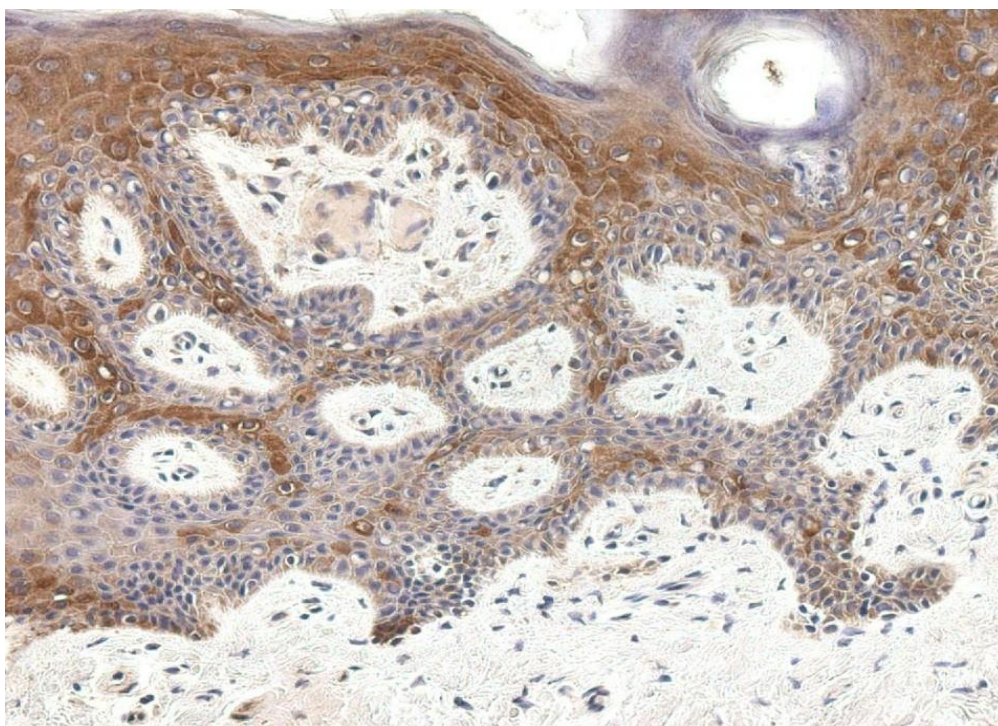
3.14. attēls. Kontroles naga plātnīte un naga gultne bez pārmaiņām, PAS reakcija negatīva. PAS, $\times 200$



3.15. attēls. IL-1 pozitīvu struktūru trūkums onihomikozes skarta naga gultnes un plātnītes audos. IL-1, IMH, $\times 200$



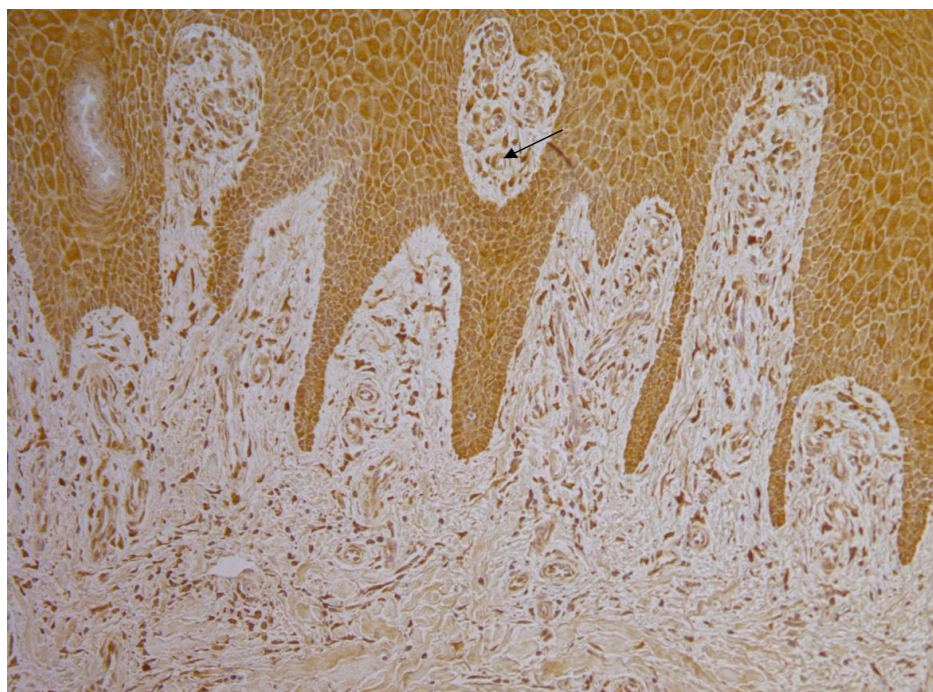
3.16. attēls. Maz līdz vidēji daudz IL-1 pozitīvu epiteliocītu kontroles naga gultnes audos, galvenokārt epitēlija virspusējos slāņos. Atrodamas arī retas pozitīvas šūnas saistaudos un naga plātnītē. IL-1, IMH, $\times 100$



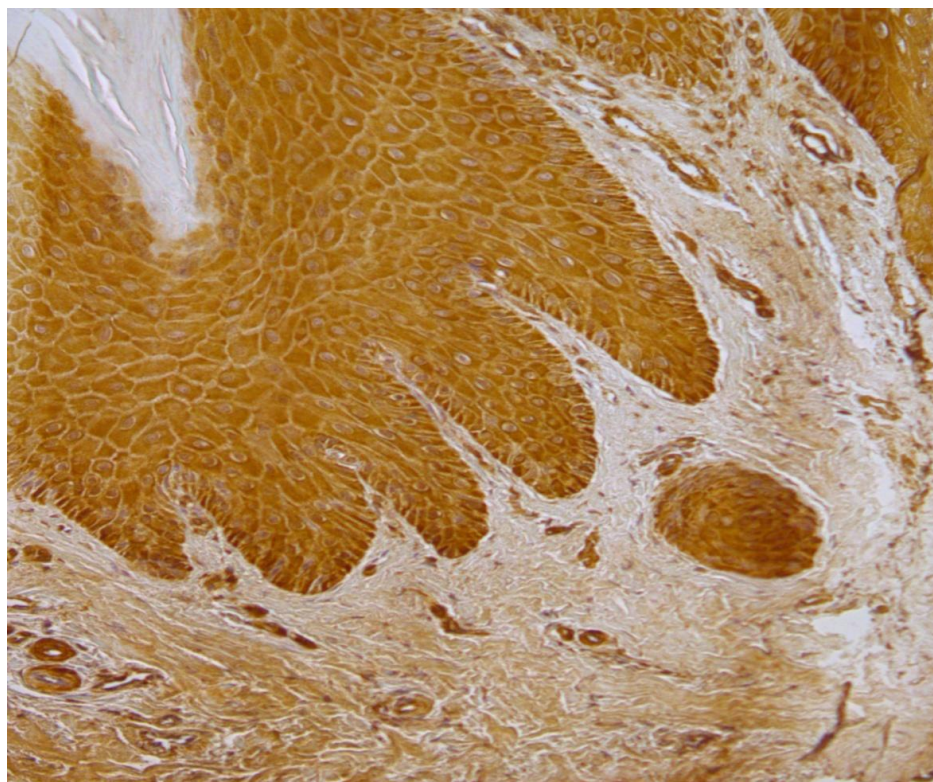
3.17. attēls. Daudz IL-6 pozitīvu epiteliocītu onihomikozes skartam nagam vienlaikus ar *stratum germinativum* sazarojumu dermā. IL-6, IMH, $\times 200$



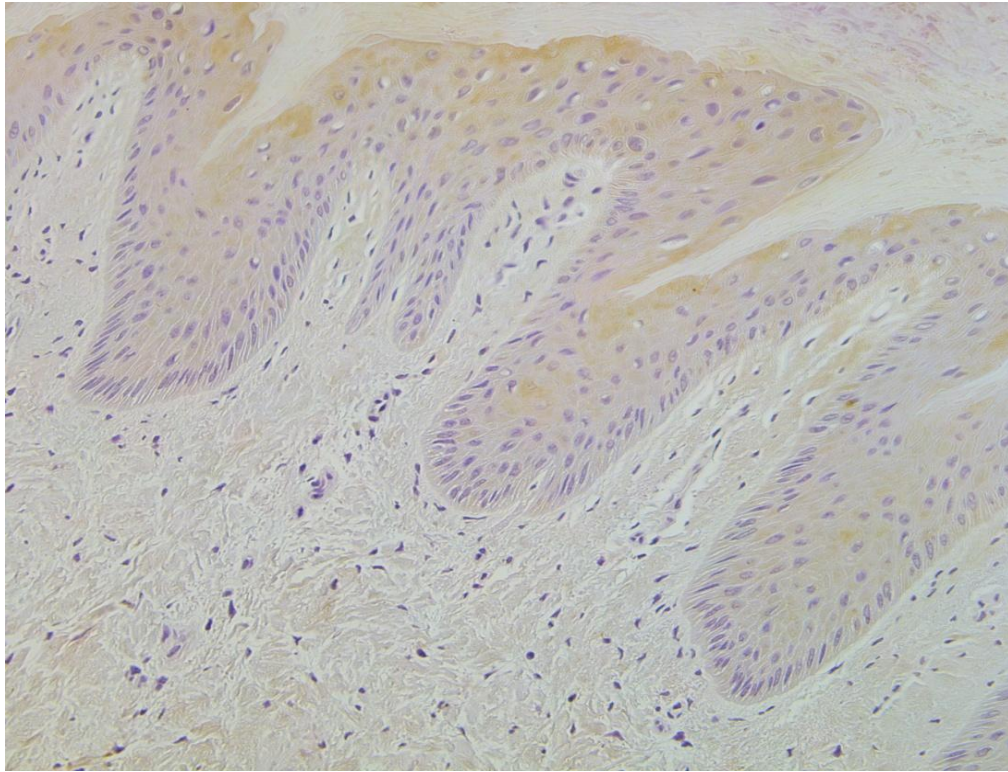
3.18. attēls. Visi naga gultnes epiteliocīti ir IL-6 pozitīvi onihomikozes skartā nagā. Subepiteliālajos audos arī redzamas pozitīvas saistaudu šūnas. IL-6, IMH, $\times 200$



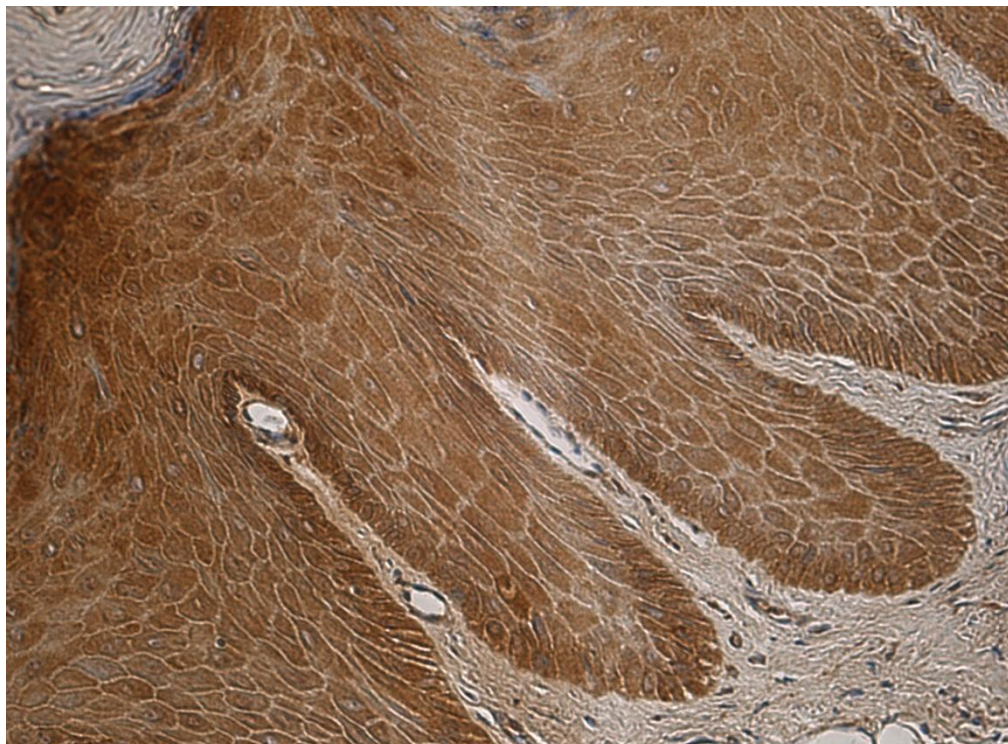
3.19. attēls. Viss onihomikozes skarta naga gultnes epitēlijs, kā arī lielākā daļa dermas saistaudu šūnu ekspresē IL-6. IL-6 pozitīvas saistaudu šūnas veido arī perivaskulārus infiltrātus (←). IL-6, IMH, $\times 100$



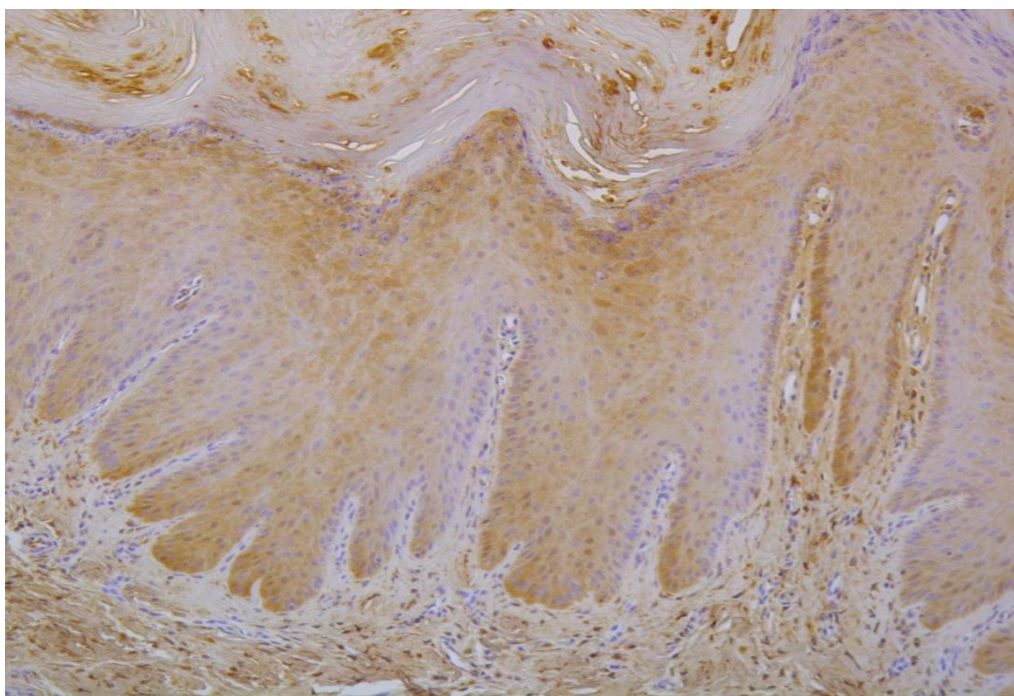
3.20. attēls. IL-6 pozitīvs onihomikozes skarta naga gultnes epitēlijs, kā arī ļoti daudz citokīnu saturošu šūnu dermas asinsvadu sienīņās IL-6. IMH, $\times 100$



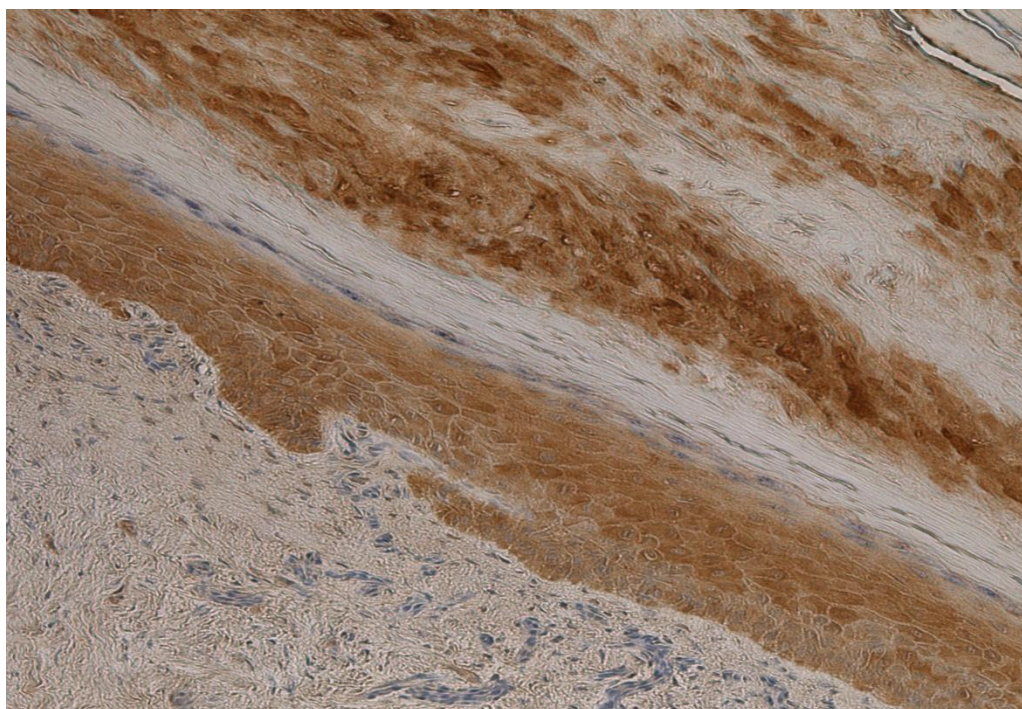
3.21. attēls. Perēķļveida vāji IL-6 ekspresējošas šūnas kontrolas naga gultnes epitēlija virspusējos slāņos. IL-6, IMH, $\times 200$



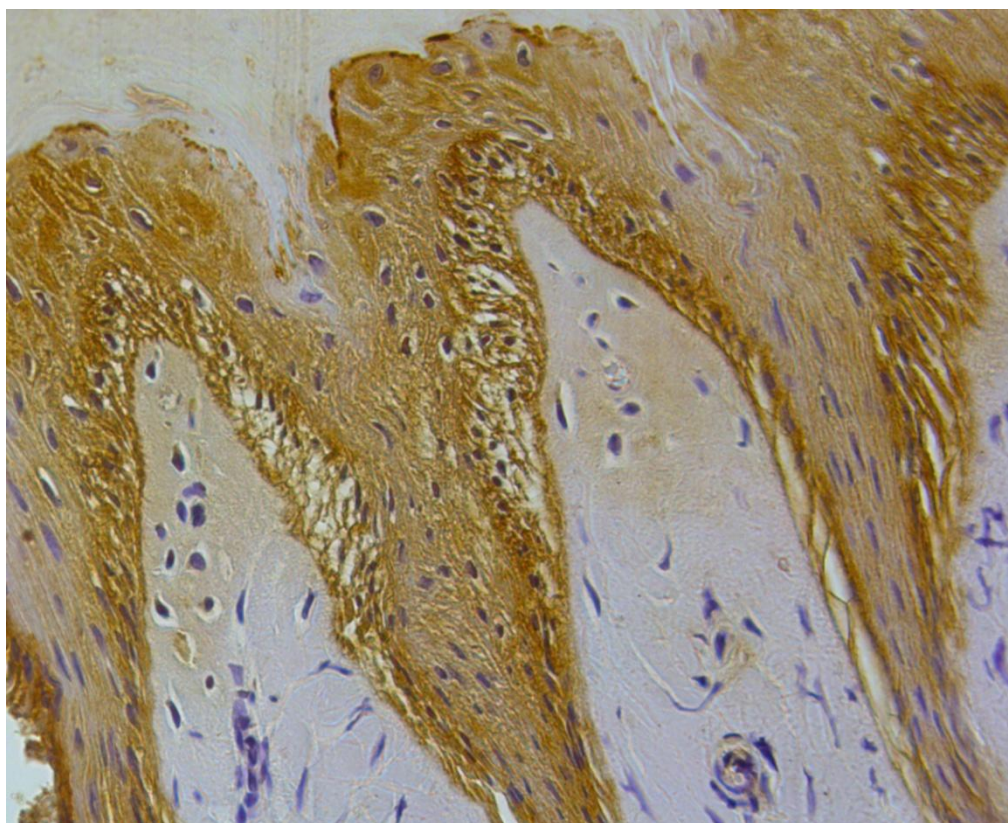
3.22. attēls. Izteikti IL-10 pozitīvs naga gultnes epitēlijs ar izteiktu šūnu citoplazmas reakciju. IL-10, IMH, $\times 200$



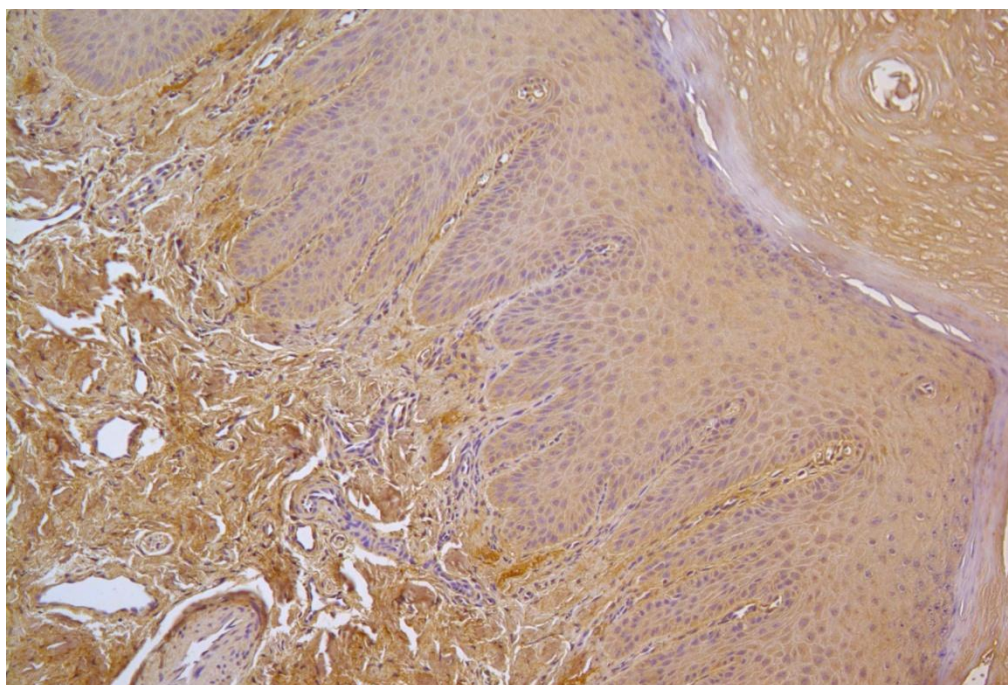
3.23. attēls. Onihomikozes skarts nags ar vidēji daudz pozitīvām šūnām naga gultnes epitēlijā: vislielākais pozitīvo šūnu skaits vērojams naga gultnes virspusējos slāņos un perēkļveidīgi dziļākajos slāņos, parabazāli. Dažas IL-10 pozitīvas šūnas redzamas dermā un naga plātnītē. IL-10, IMH, $\times 200$



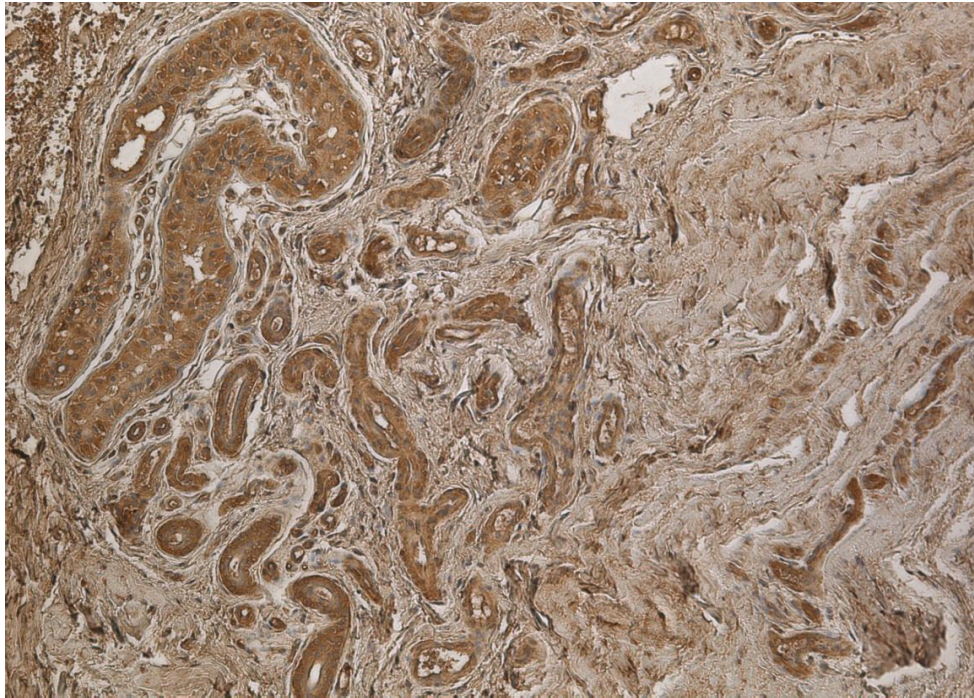
3.24. attēls. Totāls IL-10 saturošo šūnu krāsojums naga gultnes epitēlijā. Vienlaikus redzami lielpērēkļainu IL-10 šūnu sakopojumi naga plātnītē. IL-10, IMH, $\times 200$



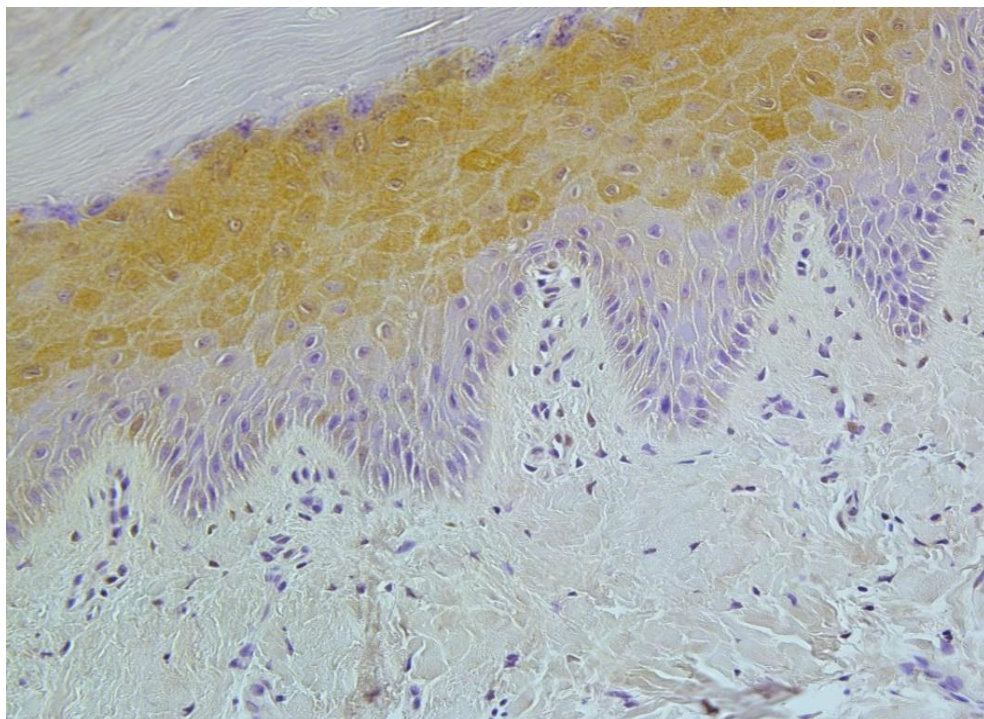
3.25. attēls. Daudz vidējas intensitātes IL-10 pozitīvo šūnu kontroles naga gultnes epitēlijā. IL-10, IMH, $\times 200$



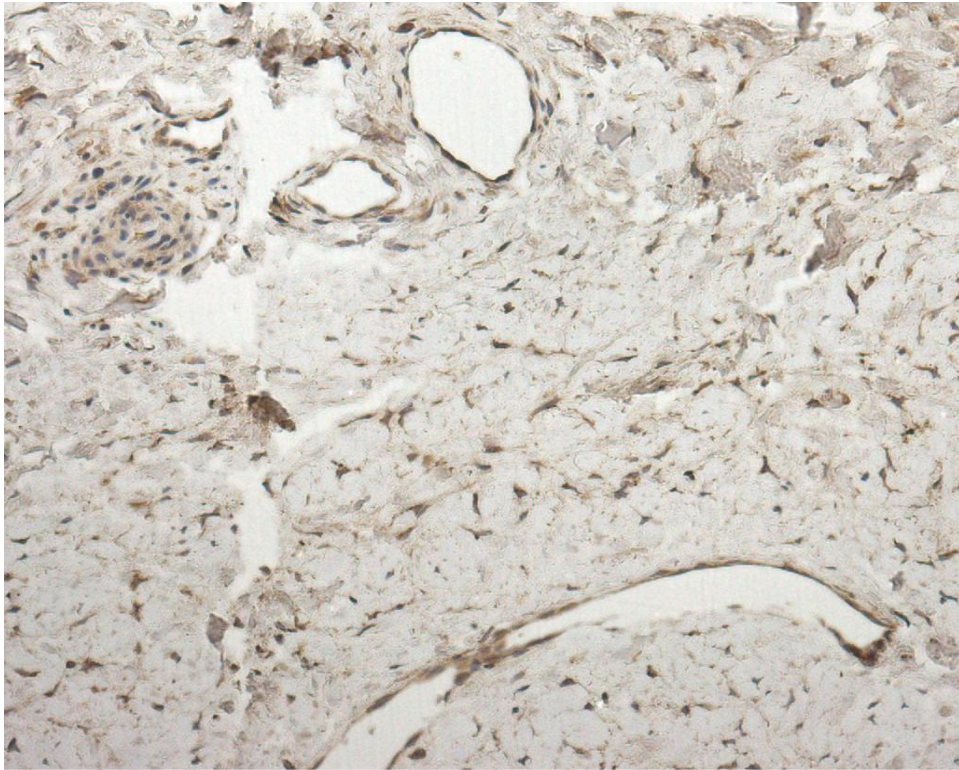
3.26. attēls. Vidēji daudz MMP-2 pozitīvu šūnu onihomikozes skarta naga gultnē, liels MMP-2 saturošu struktūru daudzums naga dermas saistaudu daļā un daudz šo struktūru naga plātnītē. MMP-2, IMH, $\times 200$



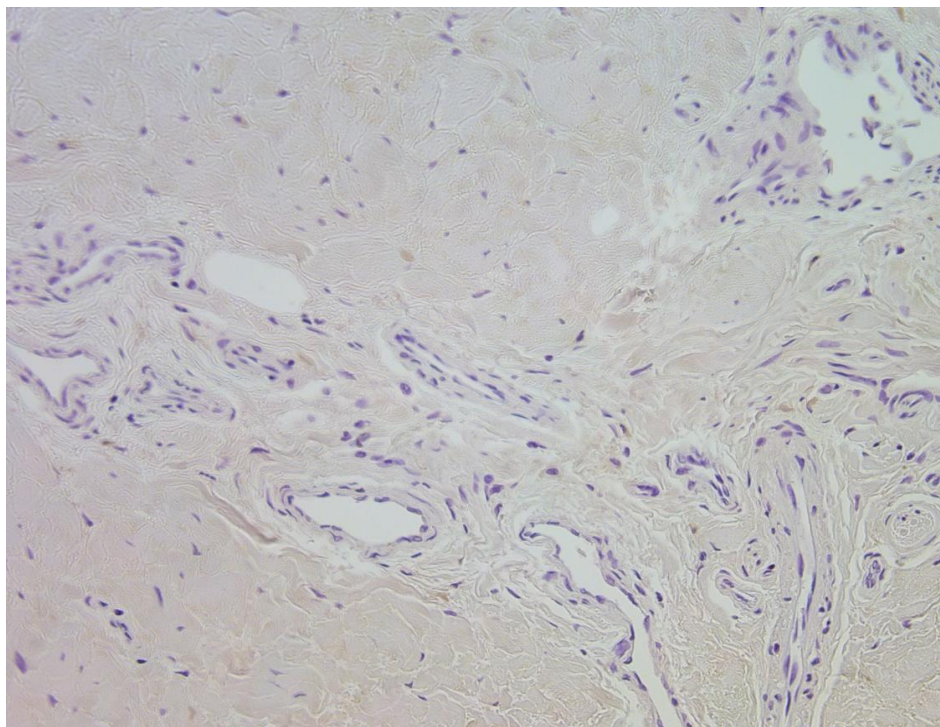
3.27. attēls. Onihomikozes skarta naga dermas audi ar daudz ādas derivātu (sviedru dziedzeri, asinsvadu sienas) šūnām, kas satur MMP-2. MMP-2, $\times 200$



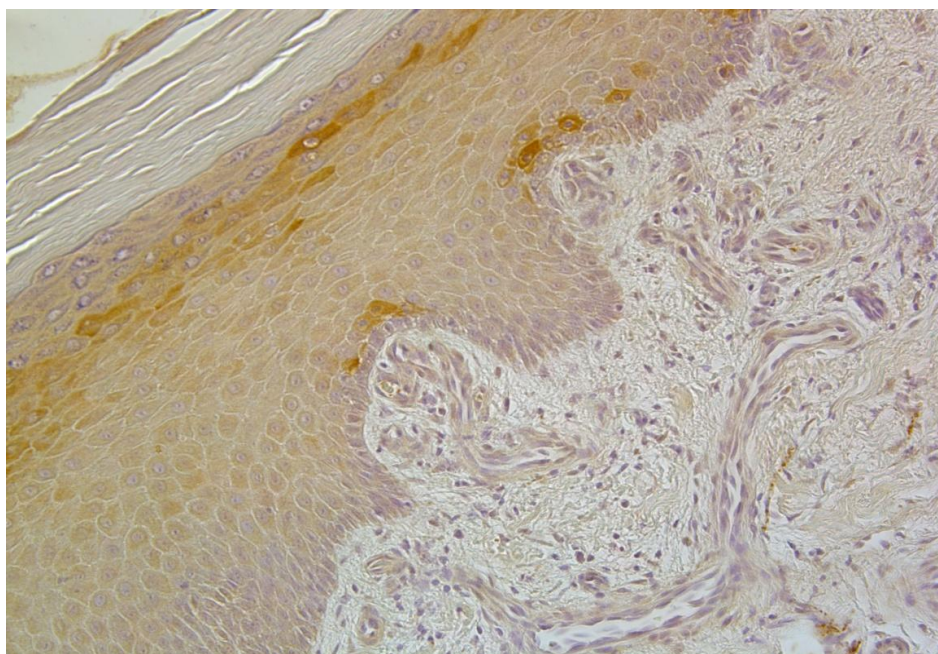
3.28. attēls. Kontroles naga gultnes epitēlijs ar virspusējo epiteliocītu izteiktu MMP-2 pozitivitāti, citoplazmas reakcija. Dermis saistaudi degradācijas enzīmu nesatur. MMP-2 IMH, $\times 200$



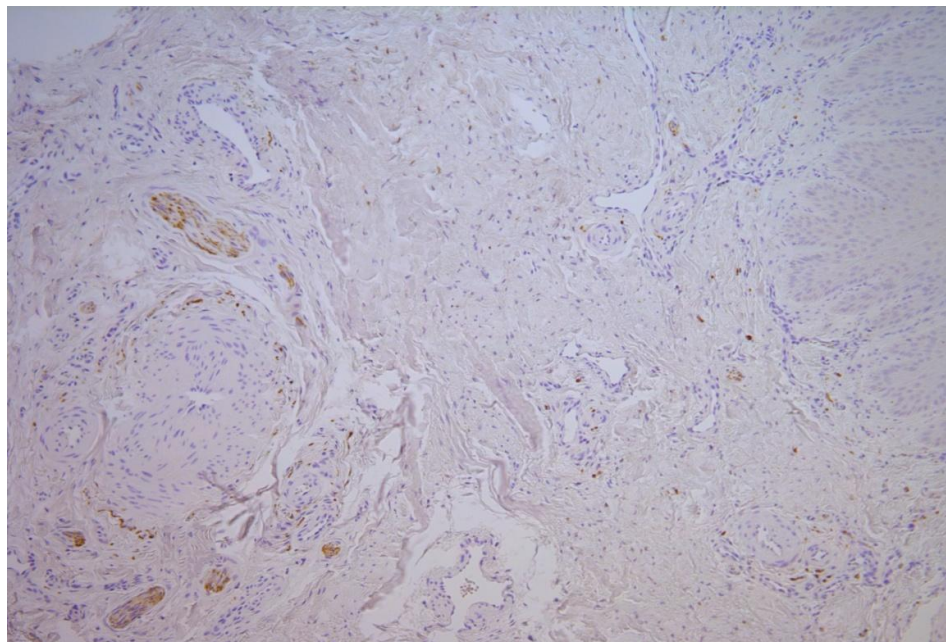
3.29. attēls. Daudz VEGF pozitīvo šūnu asinsvadu endotēlijā onihomikozes skarta naga saistaudos. VEGF, IMH, $\times 200$



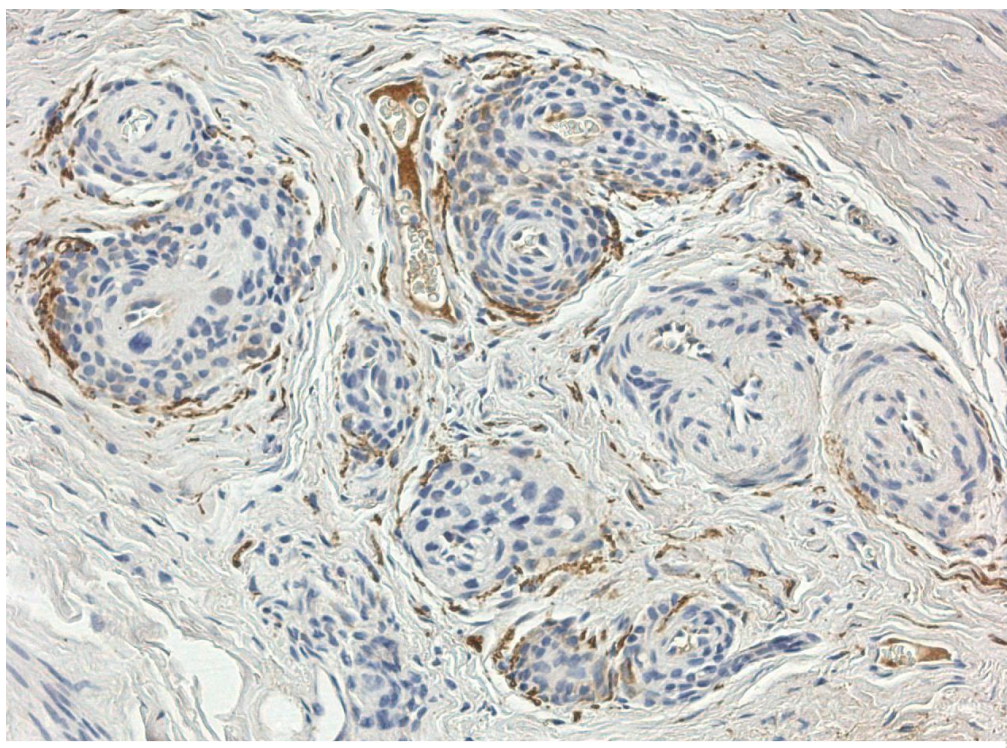
3.30. attēls. Naga vienības saistaudu daļas endotēlijs kontroles naga preparātā neuzrāda VEGF. VEGF, IMH, $\times 100$



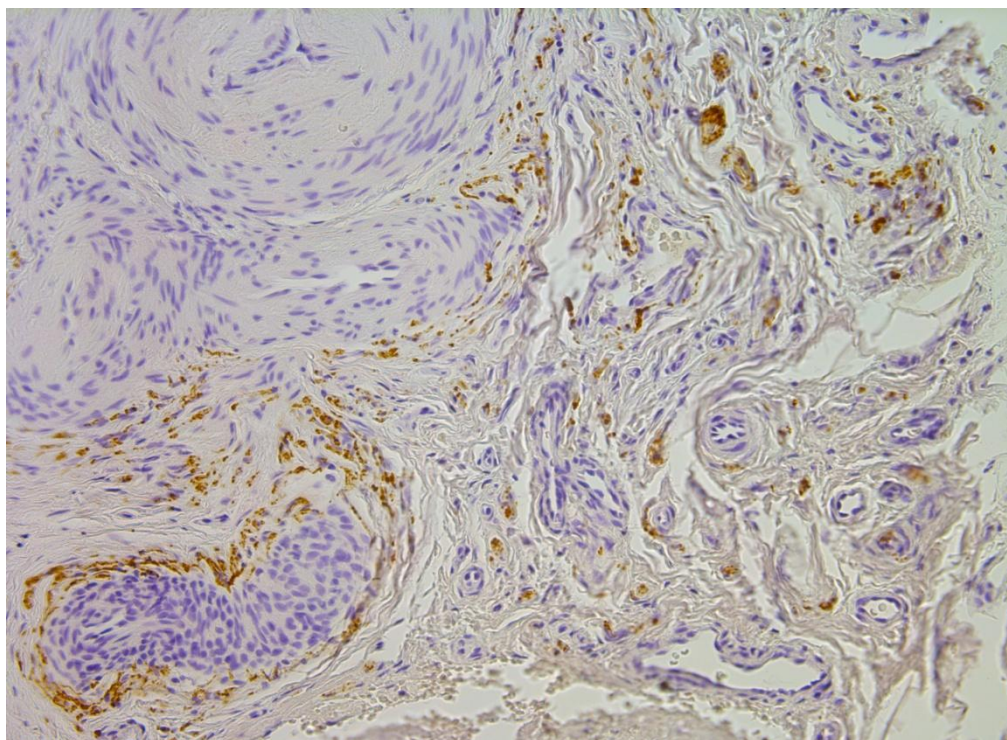
3.31. attēls. Daži epitelociāti satur PGP9,5 (ap 10% no visām naga gultnes epidermas šūnām). Dermā vidēji daudz nervšķiedru (✓), kas satur PGP9,5. PGP9,5, IMH, × 200



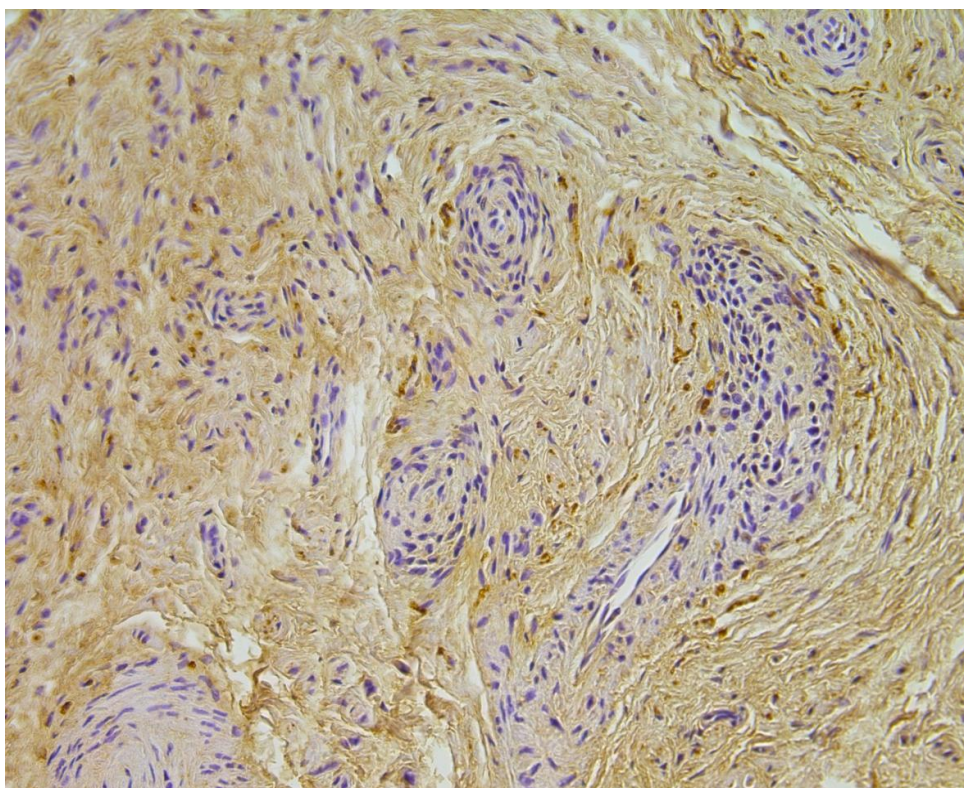
3.32. attēls. Maz PGP9,5 nervšķiedru un tikai daži nervu šķiedru kūlīši vērojami onihomikozes skarta naga saistaudos. PGP9,5, IMH, × 100



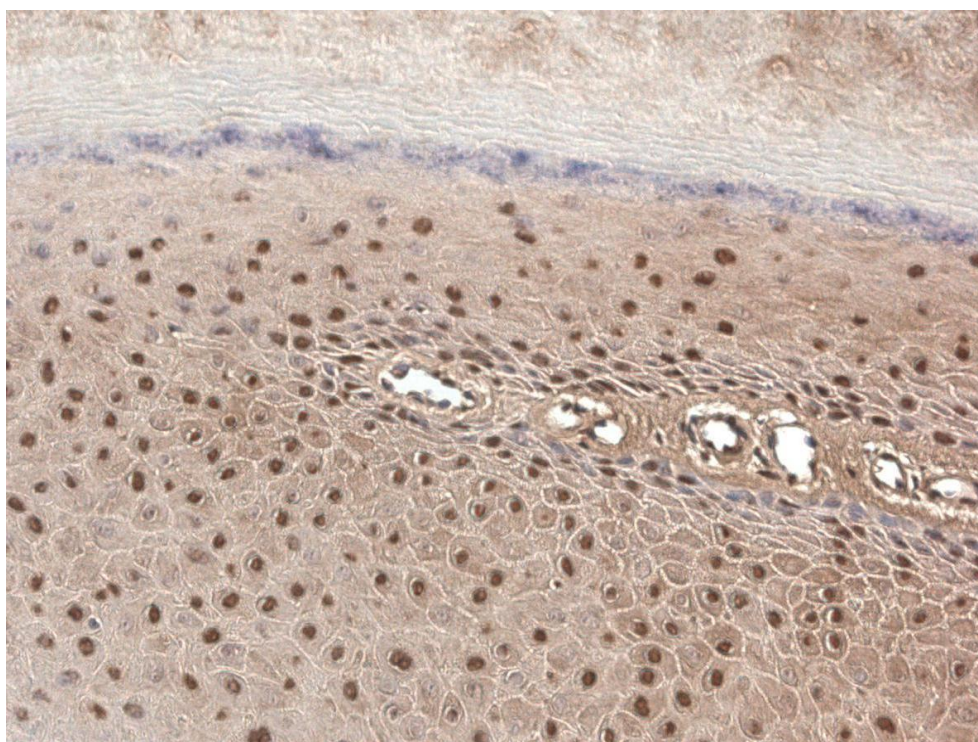
3.33. attēls. Onihomikozes skarta naga derma ar daudz intensīvi nokrāsotām PGP9,5 nervšķiedrām ap asinsvadiem. PGP9,5, IMH, × 250



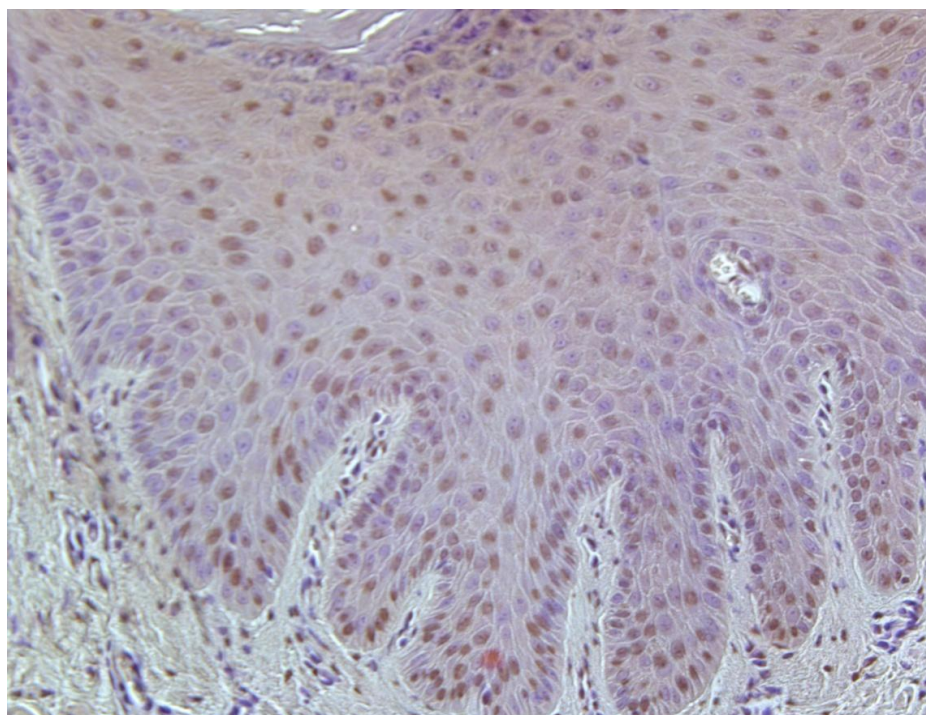
3.34. attēls. Neoangiogēzes vieta ar daudz smalkām nervšķiedrām, kas satur PGP9,5, un dažiem nervšķiedru kūļiņiem onihomikozes skarta naga dermas audos. PGP9,5, IMH, × 200



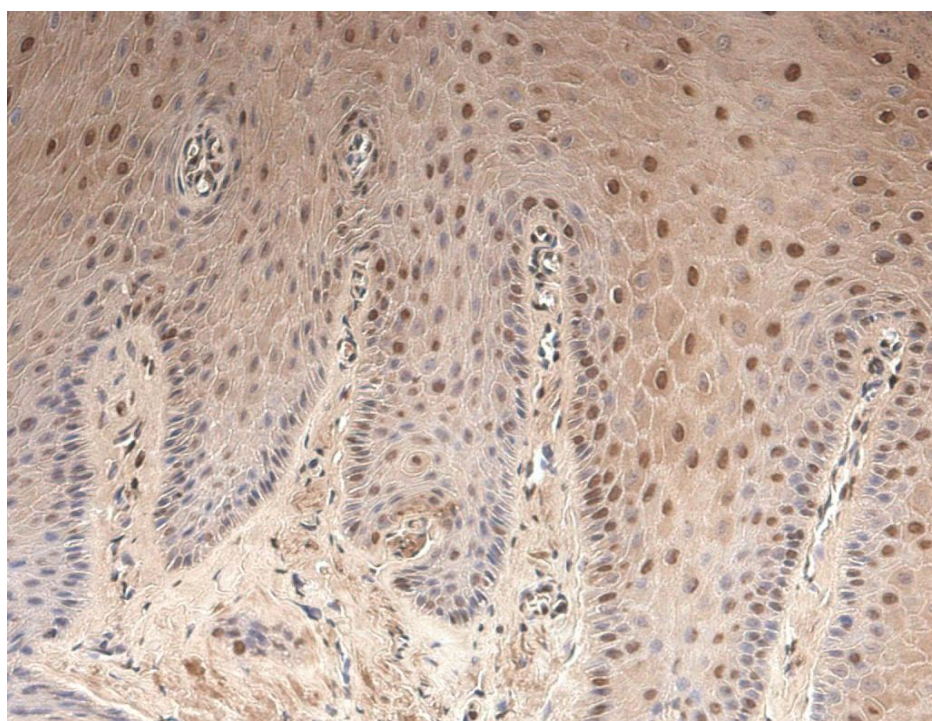
3.35. attēls. Maz smalku PGP9,5 pozitīvu nervšķiedru kontroles naga saistaudu daļā. PGP9,5, IMH, $\times 200$



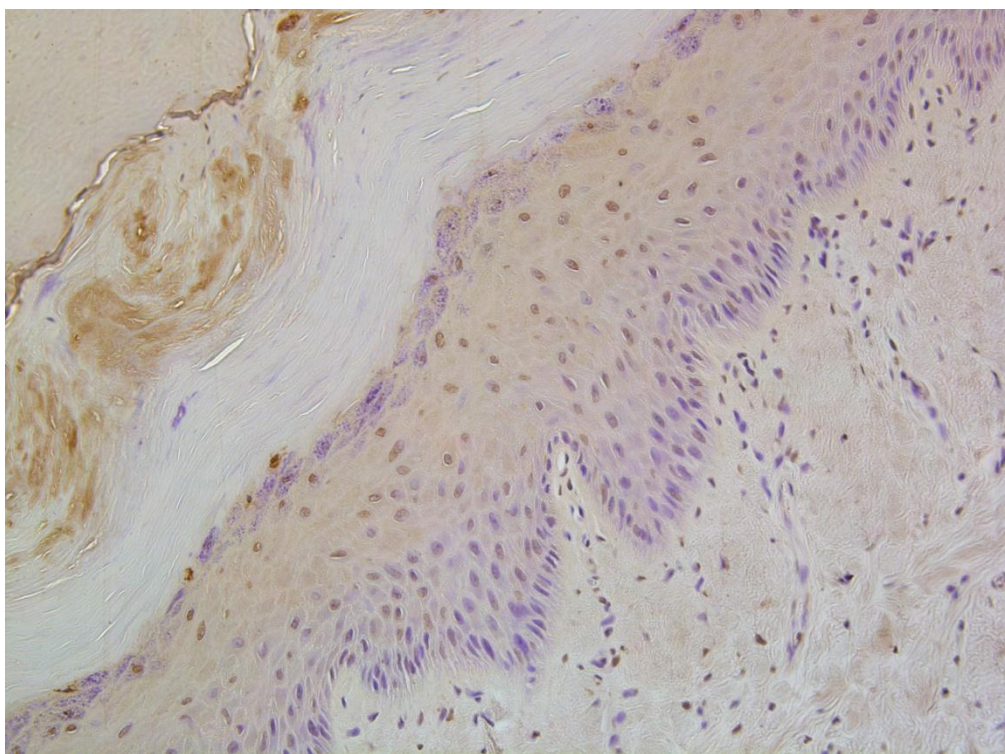
3.36. attēls. Izteikti daudz apoptotisko keratinocītu onihomikozes skarta naga gultnes audos (AI = 71). TUNEL, $\times 250$



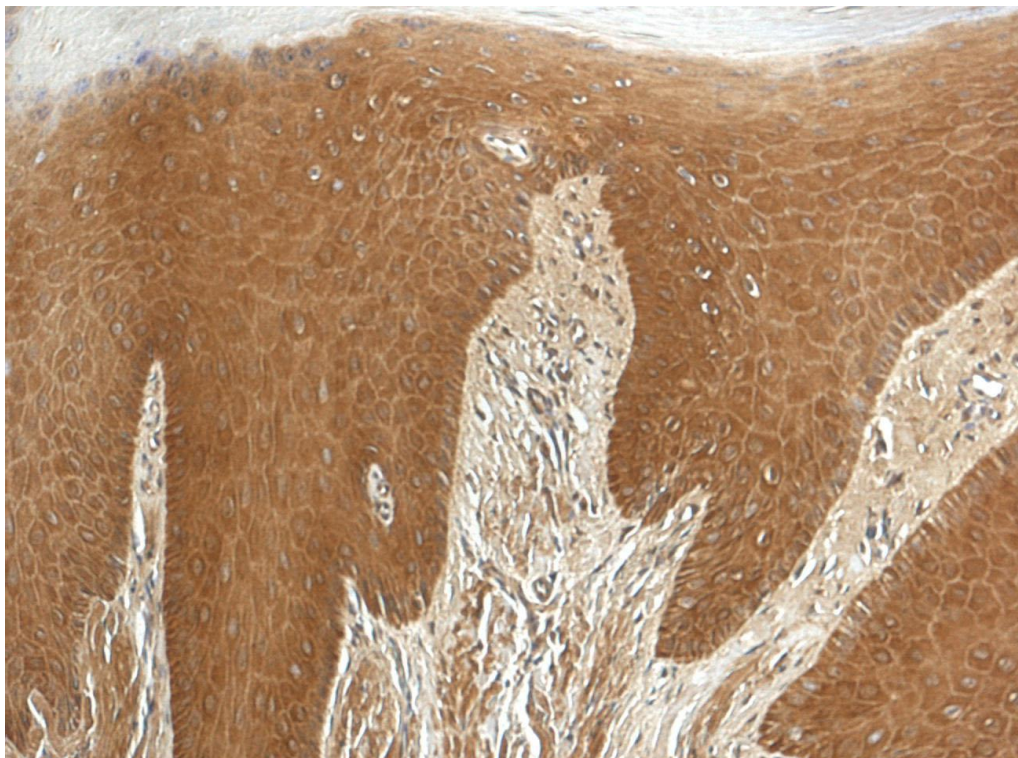
3.37. attēls. Liels apoptotisko keratinocītu daudzums onihomikozes skartas naga vienības gultnes audos. Apoptoze skar dažas dermas saistaudu šūnas. TUNEL, $\times 200$



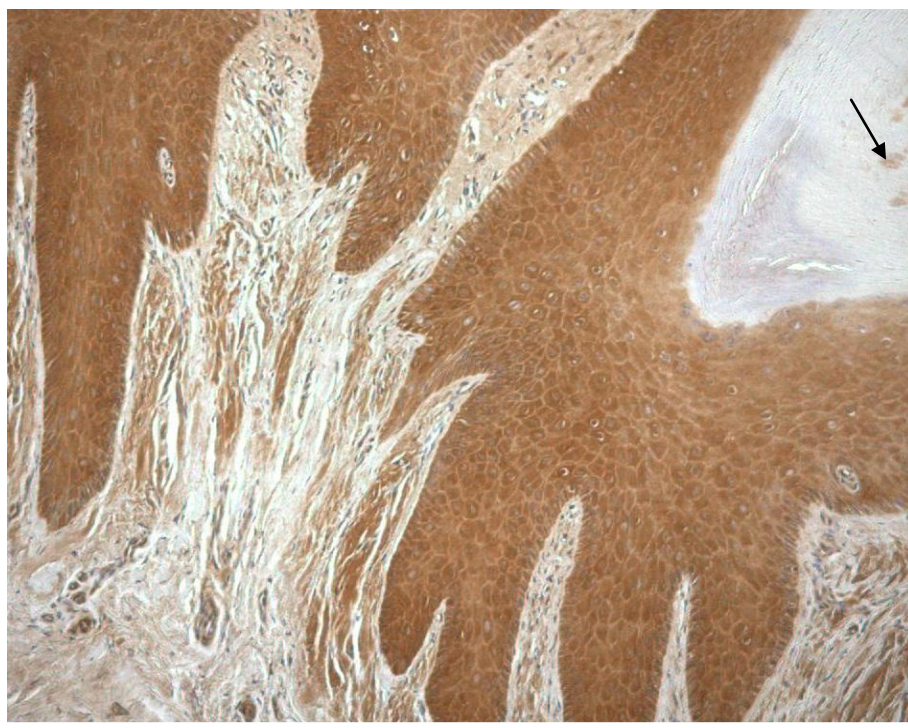
3.38. attēls. Vidēji daudz līdz daudz apoptotisko keratinocītu onihomikozes skartas naga vienības gultnes audos. TUNEL, $\times 200$



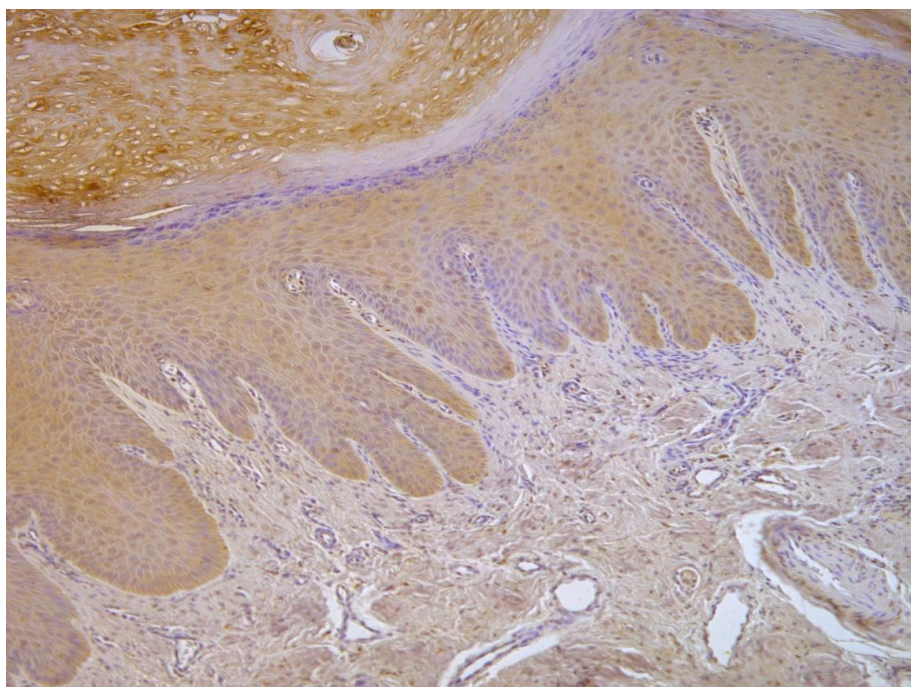
3.39. attēls. Maz ($< 15\%$) apoptotisko šūnu kontroles grupas naga gultnes audos. TUNEL, $\times 200$



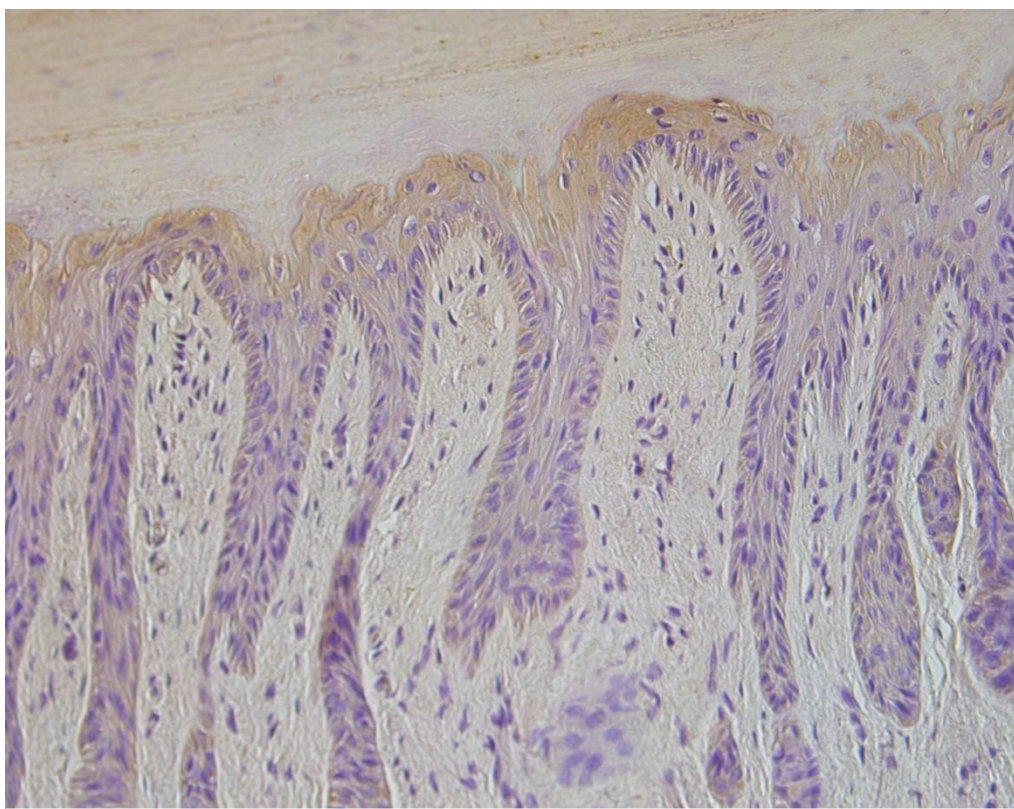
3.40. attēls. Daudz hBD-2 pozitīvu šūnu onihomikozes skarta naga gultnē un vidēji daudz hBD-2 pozitīvu šūnu naga vienības saistaudu daļā. hBD-2, IMH, $\times 200$



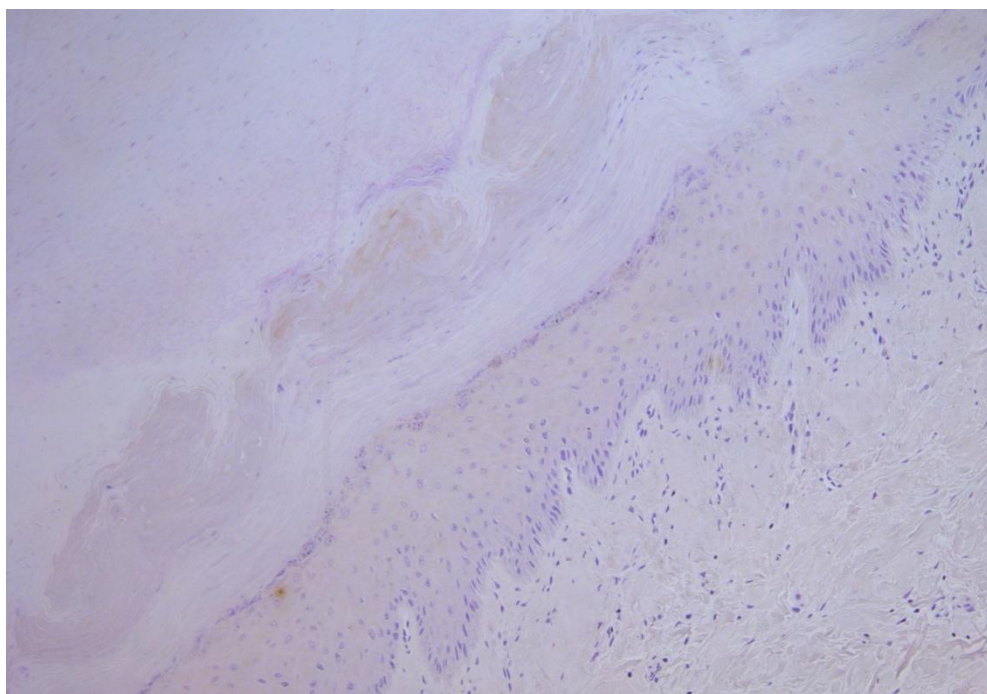
3.41. attēls. Daudz hBD-2 pozitīvu šūnu onihomikozes skarta naga gultnē un vidēji daudz hBD-2 pozitīvu šūnu naga vienības saistaudu daļā, daži pozitīvo šūnu sakopojumi redzami naga plātnītes daļā (↘). hBD-2, IMH, $\times 100$



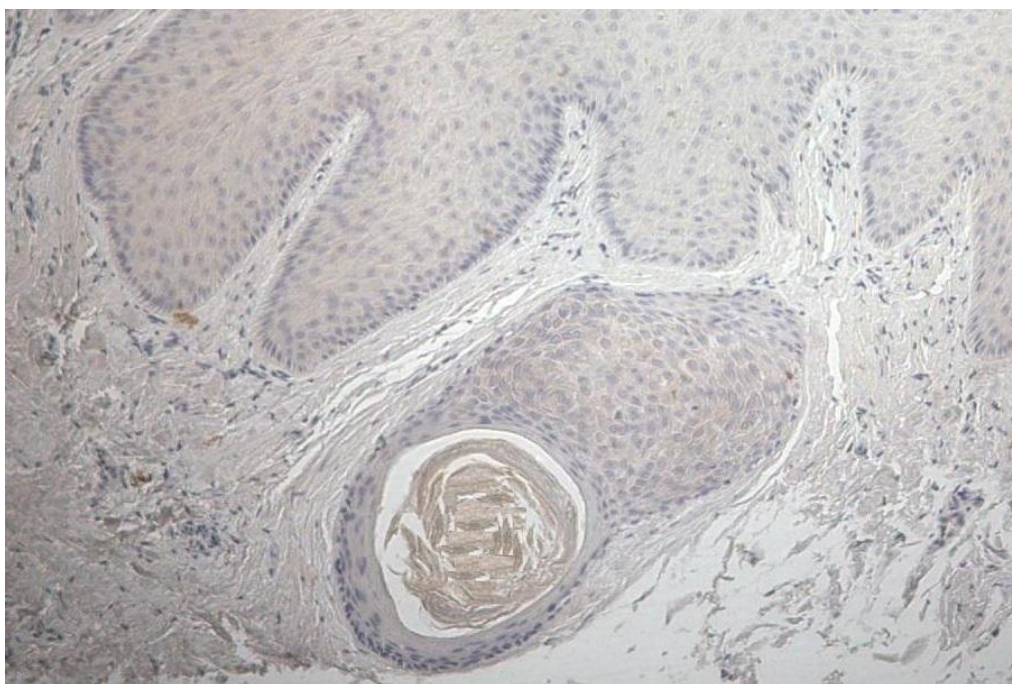
3.42. attēls. Onihomikozes skarta naga plātnītē vēro intensīvi krāsotas perēkļveidīgi lokalizētas šūnas, kas satur hBD-2. Naga gultne satur subtotālu ($> 70\%$ keratinocītu) vidējas intensitātes keratinocītu daudzumu, bet dermā redzamas retas pozitīvas šūnas. hBD-2, $\times 100$



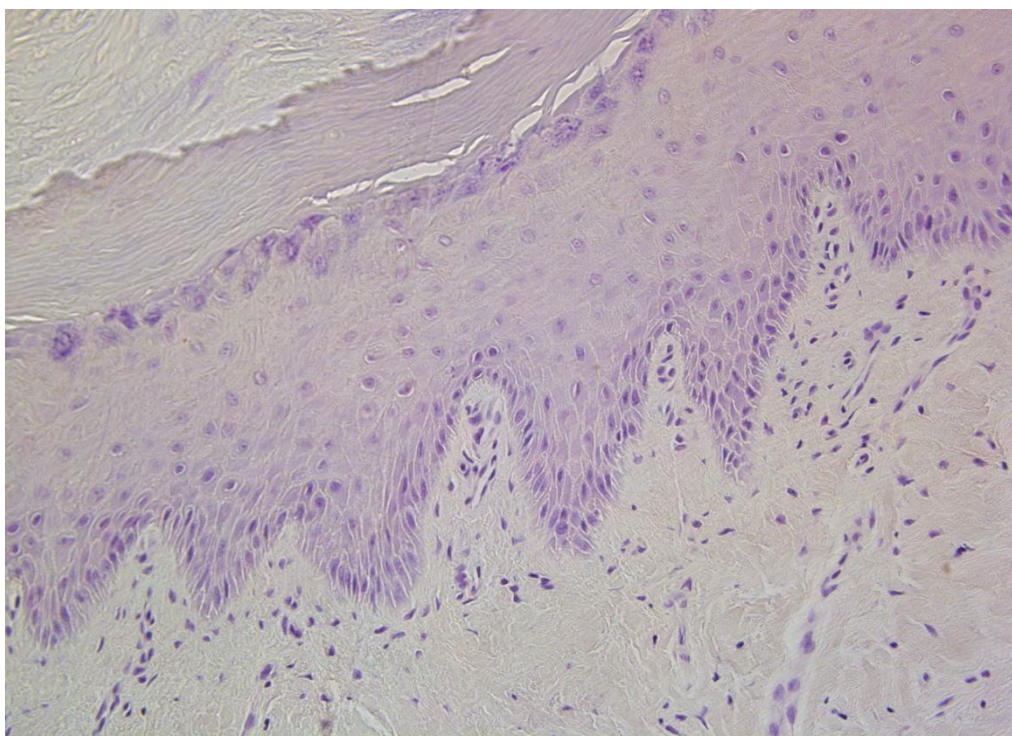
3.43. attēls. Vājas intensitātes un vietām vidējas intensitātes krāsoti keratinocīti, kas satur hBD-2, kontroles naga gultnes virspusējos slāņos. hBD-2, $\times 200$



3.44. attēls. Negatīva hBD-3 reakcija kontroles grupas nagā, bet vājas intensitātes maz pozitīvu epitelocītu redzami epidermā. hBD-3, IMH, $\times 200$

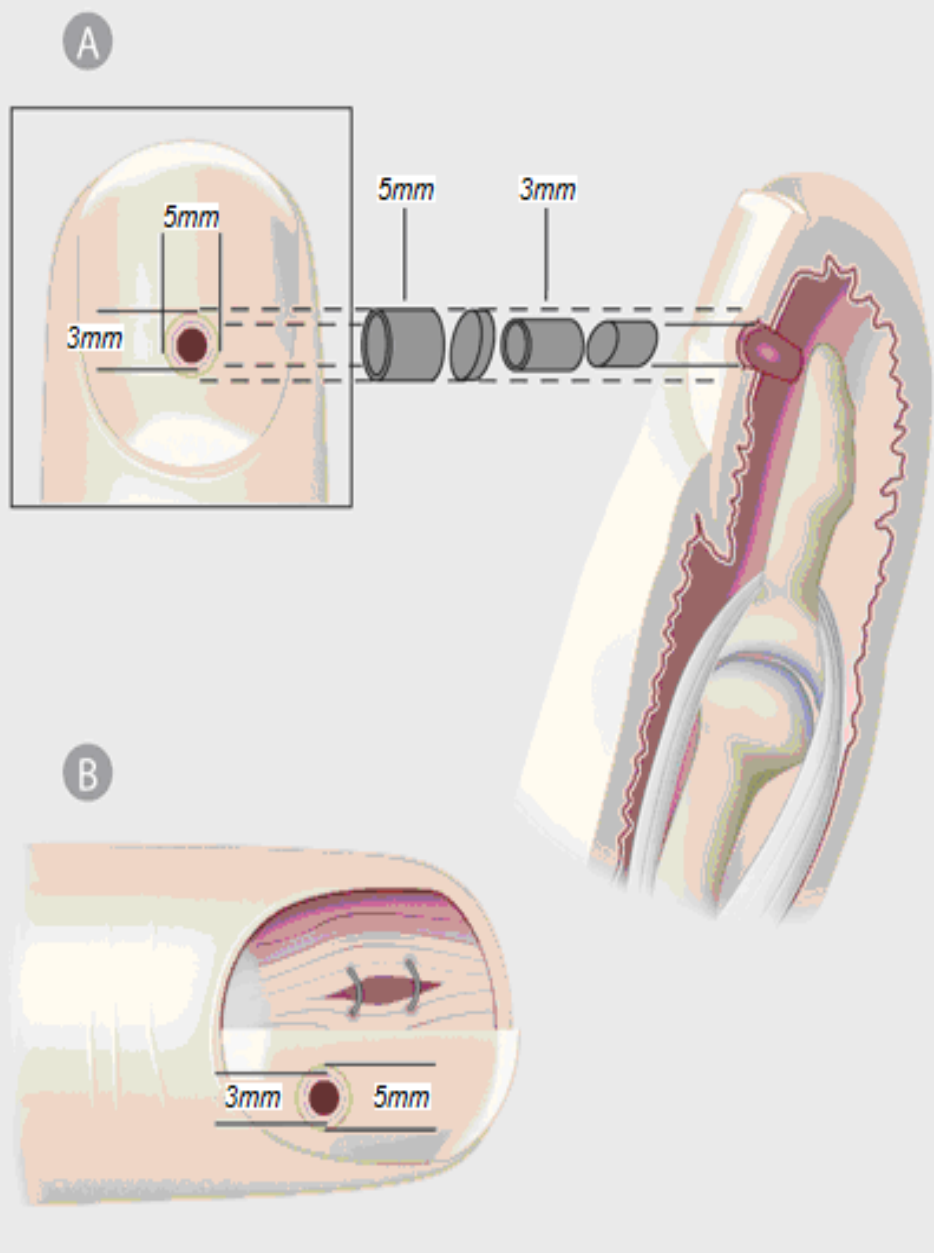


3.45. attēls. Mikroskopiska epidermāla cista (pildīta ar raga masām) onihomikozes skarta naga gultnē, hBD-4 negatīva reakcija. hBD-4, IMH, $\times 100$



3.46. attēls. Kontroles nags, kur hBD-4 netika atrasts. hBD-4, IMH, $\times 200$

Naga gultnes biopsija



Attēla adaptēts no: Goldsmith L. A., Katz S. I., Gilbrecht B. A., Palller A. S., Leffell D. J., Wolff K.

Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 5 th Edition, 3000. lpp.

Pacienta informētā piekrišana naga biopsijai

Ar _____ parakstu _____ apliecinu, _____ ka _____ es,
.....,

(vārds, uzvārds, personas kods)

piekrītu piedalīties pētījumā “Dabīgo antimikrobo peptīdu un tos ietekmējošo faktoru noteikšana onihomikozes pacientu nagos” asoc. prof. J. Ķīša, prof. M. Pilmanes, dr. Olgas Zaikovskas vadībā.

Esmu pilnībā informēts/-a par pētījuma procesa norisi, kā arī esmu saņēmis/-usi pacienta informācijas lapu ar man saprotamu pētījuma norises aprakstu.

Esmu informēts/-a, ka man tiks nodrošināta anonimitāte un mani personas dati netiks publiskoti.

Datums:

Pacienta paraksts:

Pētnieku paraksti:

Pacienta klīnisko datu anketa

1. Pacienta vārds, uzvārds.....
2. Pacienta vecums:

mazāk nekā 2525–60vairāk nekā 60
3. Cik un kādi nagi ir skarti:

II līdz V rokas pirksts īkšķis (I pirksts) vai II–V kājas pirkstslielais kājas pirksts
4. Bojājuma forma:

superficiāladistāla vai laterālaproksimāla
5. Cik liels ir naga bojājums:

līdz 1/3 no naga garumano 1/3 līdz 2/3vairāk par 2/3
6. Cik bieza ir naga plātnīte:

mazāka par 1 mmmazāka par 2 mmlielāka par 2 mm
7. D vitamīna daudzums asinīs.....
8. Blakusslimības (citas ādas slimības, iekšējo orgānu slimības).....
9. Vai pirms tam jau bijusi kāda terapija? Kāda? Cik ilgi?
.....
10. Biopsija veikta no labās / kreisās kājas / rokas 1. 2. 3. 4. 5. pirksta
11. Mikroskopijas rezultāts.....
12. Uzsējuma rezultāts.....
13. FOTO

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel.67409101

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Asoc. prof. Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2. Profesore Vija Sīle	Dr.phil.	filozofs
3. Docente Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
4. Asoc. prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
5. Profesore Regīna Kleina	Dr.med.	patalogs
6. Asoc. prof. Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
7. Asoc. prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs

Pieteikuma iesniedzējs: Olga Zaikovska
Medicīnas fakultāte, doktorantūra

Pētījuma nosaukums: „Dabīgo antimikrobo peptīdu un to ietekmējošo faktoru noteikšana onihomikozes pacientu nagos”.

Iesniegšanas datums: 18.01.2012.

Pētījuma protokols: Minētā pētījuma mērķis tiek sasniegts veicot onihomikozes skarto nagu pacientu (sievietes un vīrieši virs 18 g. vecumam) pētījums, kādi antimikrobie peptīdi ir atrodami slimos nagos salīdzinājumā ar veselajiem, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izsakot secinājumus un priekšlikumus. Personas datu aizsardzība, brīvprātīga piekrišana un konfidencialitāte nodrošināta.

(X) Pētījuma veids:

(X) Pētījuma populācija: apmēram 40 cilvēki

(X) Informācija par pētījumu: ir

(X) Piekrišana dalībai pētījumā: ir

Lēmums: piekrist biomedicīniskajam pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers

Tituls: Dr. miss., asoc. prof.

Paraksts



Ētikas komitejas sēdes datums: 26.01.2012.

Histoloģijas datu pārskats

P.	Naga plātnīte				Naga gultne				Derma		
	Parakeratoze	Hiperkeratoze	Ieslēgumi	PAS	Granuloze	Akantoze	Vakuolārs boj.	Pericel. tūska	Kolagēnās šķ.	Vaskularizācija	Fibrociņu daudz.
1	2	nav	3	+	normo-	nav	nav	2	normo-	2	70
2	2	ir	3	+	hiper-	nav	2	nav	hiper-	nav	120
3	nav	nav	2	+	normo-	nav	2	2	atrof-	3	100
4	2	ir	3	+	hiper-	nav	nav	nav	hiper-	nav	75
5	3	nav	3	+	hiper-	nav	nav	3	normo-	2	85
6	3	nav	nav	+	hipo-	2	2	2	hiper-	2	60
7	2	nav	nav	+	hiper-	nav	nav	2	hiper-	3	110
8	3	ir	2	+	normo-	nav	nav	2	normo-	3	110
9	2	nav	2	+	hiper-	3	3	3	atrof-	2	60
10	2	ir	nav	–	hiper-	nav	nav	2	normo-	2	70
11	2	nav	nav	+	normo-	3	3	3	atrof-	2	50
12	3	ir	3	+	normo-	nav	nav	nav	normo-	2	80
13	3	nav	nav	–	hiper-	3	3	3	normo-	nav	60
14	2	nav	2	+	normo-	nav	nav	nav	atrof-	3	40
15	2	ir	nav	–	hiper-	nav	nav	3	normo-	3	70
16	2	ir	nav	+	hiper-	nav	2	nav	hiper-	2	50
17	3	ir	3	+	normo-	nav	2	3	normo-	2	70
18	3	ir	2	+	normo-	nav	2	3	atrof-	2	50
19	2	ir	nav	–	hipo-	nav	nav	3	hiper-	3	110
20	2	ir	3	+	hiper-	nav	2	nav	normo-	2	60
21	3	ir	2	+	normo-	nav	nav	3	hiper-	2	80
22	3	nav	2	+	normo-	2	nav	nav	normo-	3	65
23	2	ir	2	+	hiper-	nav	nav	2	atrof-	3	30
24	2	ir	2	+	hipo-	nav	3	2	normo-	2	30
25	2	nav	nav	–	hiper-	3	2	2	normo-	2	80
26	3	nav	2	+	normo-	2	2	nav	hiper-	2	40
27	2	ir	3	+	hiper-	nav	2	3	hiper-	3	80
28	2	ir	3	+	hiper-	nav	2	3	hiper-	2	40
29	2	ir	2	+	normo-	nav	2	3	hiper-	3	120
30	2	ir	3	+	hipo-	4	2	2	hiper-	2	67
1K	nav	nav	nav	–	normo-	nav	2	nav	normo-	nav	50
2K	nav	nav	nav	–	normo-	nav	nav	nav	normo-	nav	45
3K	nav	nav	nav	–	normo-	nav	2	2	normo-	nav	50
4K	nav	nav	nav	–	hipo-	nav	nav	nav	normo-	nav	40
5K	nav	nav	nav	–	normo-	nav	2	nav	normo-	nav	35

Saīsinājumi un apzīmējumi: P. – pacienta numurs, boj. – bojājums, pericel. – pericelulāra, šķ. – šķiedras, daudz. – daudzums 2 – sīkperēklains bojājums, 3 – lielperēklains bojājums, 4 – totāls bojājums