



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Zane Vitenberga-Verza

ORCID 0000-0002-9650-3504

Hroniskas obstruktīvas plaušu slimības (HOPS) skartu audu morfoloģisks raksturojums

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – histoloģija un citoloģija

Rīga, 2020

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē.

Promocijas darba vadītāja:

Dr. med., Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**,
Rīgas Stradiņa universitātē, Anatomijas un Antropoloģijas institūts, Latvija

Zinātniskā konsultante:

Dr. med. **Aurika Babjoniševa**, Rīgas Stradiņa universitātē,
Anatomijas un Antropoloģijas institūts,
Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesors **Sergejs Isajevs**,

Latvijas Universitātē

Dr. med. vet. profesore **Marina Aunapuu**,

Tartu Universitātē, Igaunija

Dr. med. profesore **Ingrīda Balnytė**,

Lietuvas Veselības zinātņu universitātē

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Rīgas Stradiņa universitātes promocijas padomes “Medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija” atklātā sēdē 2020. gada 28. decembrī plkst. 10.00 gan Rīgas Stradiņa universitātē, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā, gan attālināti Zoom tiešsaistes platformā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. sc. soc., docents **Andrejs Ivanovs**

SATURS

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	4
IEVADS	5
1. MATERIĀLS UN METODES	13
1.1. Morfoloģiski izmeklējamais materiāls	13
1.2. Morfoloģiskās izmeklēšanas metodes	14
1.2.1. Audu materiāla fiksācija un griezumu sagatavošana	14
1.2.2. Rutīnas histoloģiskā krāsošanas metode	15
1.2.3. Biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmiskā metode un reaktīvi	16
1.3. Datu apstrādes metodes	19
1.3.1. Puskvantitatīvā metode	19
1.3.2. Datu statistiskās apstrādes metodes	20
1.4. Vecuma grupu definīcija ar vecumu saistīto pārmaiņu analizē	20
2. REZULTĀTI	21
2.1. Morfoloģisko datu raksturojums kontroles grupas pacientiem un HOPS pacientiem	21
2.2. Ar biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi iegūto datu raksturojums un statistiskā analīze	23
2.2.1. Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmisko datu atradne un statistiskā analīze kontroles grupas pacientiem	23
2.2.2. Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskā atradne un statistiskā analīze HOPS pacientiem	30
2.3. Kontroles grupas un HOPS pacientu dažādus audu faktorus saturošu šūnu relatīvā daudzuma savstarpējais salīdzinājums	43
2.4. Dažādu audu faktoru analīze ontogēnēzes aspektā	43
2.4.1. Dažādi audu faktori kontroles grupai ontogēnēzes aspektā	43
2.4.2. Dažādi audu faktori HOPS pacientiem ontogēnēzes aspektā	44
3. DISKUSIJA	47
3.1. HOPS skartu plaušu audu rutīnās histoloģiskās izmeklēšanas atradne	47
3.2. Dažādu audu faktori relatīvi veselos plaušu audos	50
3.3. Citokīni HOPS skartu plaušu audos	52
3.4. Remodelācijas faktori un aktivitātes indikatori HOPS skartu plaušu audos	61
3.5. Lokālā antimikrobā aizsardzība HOPS skartu plaušu audos	66
3.6. Plaušu audu ontogēnēzes pārmaiņas	67
4. SECINĀJUMI	75
LITERATŪRAS SAKAISTS	77
PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	86
PATEICĪBAS	89

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI¹

AAI	– Anatomijas un antropoloģijas institūts
ASV	– Amerikas Savienotās Valstis
CD	– šūnu diferenciācijas klusters (<i>cluster of differentiation</i>)
HOPS	– hroniska obstruktīva plaušu slimība
DAB	– 3'-diamīnbenzidīns (<i>3'-Diaminobenzidine</i>)
ECM	– ekstracelulārā (ārpusšūnu) matrice
EDTA	– etilēndiamīntetraetiķskābe (<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
FEV ₁	– forsētas izelpas vienas sekundes tilpums (<i>forced expiratory volume in one second</i>)
FVC	– forsētā vitālā kapacitāte (<i>forced volume vital capacity</i>)
hBD	– cilvēka beta defensīns (<i>human beta defensin</i>)
Hsp	– karstuma šoka proteīns (<i>heat shock protein</i>)
IgE	– imūnglobulīns E
IL	– interleikīns
IHK	– imūnhistoķīmija, imūnhistoķīmisks
L	– litrs
μm	– mikrometrs
MMP/MMPs	– matricas metaloproteināze/-s
NK	– dabiskās galētājšūnas (<i>natural killers</i>)
p	– p vērtība
p/g	– paciņu gadi
PVO	– Pasaules Veselības organizācija
r _s	– Spīrmena rangu korelācijas koeficients
RSU	– Rīgas Stradiņa universitāte
TGF	– transformējošais augšanas faktors (<i>transforming growth factor</i>)
Th	– T palīgšūna (<i>T helper cell</i>)
TIMP/TIMPs	– matricas metaloproteināzes audu inhibitori/-i (<i>tissue inhibitor of metalloproteinase/-s</i>)
TLR/TLRs	– zvanveida receptori/-i (<i>toll like receptor/-s</i>)
TNF-α	– audzēju nekrozes faktors alfa (<i>tumour necrosis factor alpha</i>)
TRIS	– tris(hidroksimetil)amīnmetāns
U	– Manna–Vitnija testa U vērtība
°	– grādi
°C	– Celsija grādi

¹ Iekavās pievienoti tulkojumi angļu valodā.

IEVADS

Hronisku obstruktīvu plaušu slimību (HOPS) raksturo progresīva gaisa pārvades ceļu sašaurināšanās, hroniska iekaisuma attīstība un klīniski novērojams elpas trūkums (Cazzola et al., 2007). Pēc Pasaules Veselības organizācijas (PVO) publicētajiem datiem HOPS ir trešais vadošais nāves iemesls pasaulē, sasniedzot apmēram 5 % mirstību no visiem nāvi izraisošajiem iemesliem. HOPS prevalence pasaules mērogā ir apmēram 251 miljons saslimušo (WHO, 2018, 2019a). Klasiski HOPS saista ar smēķēšanu, arada vides putekļu, ķīmisku vielu, pesticīdu, tvaiku vai citu gaistošu piesārņojumu iedarbību (Gibson et al., 2013). Atsevišķos pētījumos noteikts, ka līdz pat 70 % no HOPS pacientiem ir nesmēķētāji (Salvi & Barnes, 2009). Kopumā HOPS veidošanās ir saistīta ar kompleksu gaistošu gāzu un to daļiņu ekspozīciju, indivīda iekšējiem faktoriem (iedzimtību, audu lokālām pārmaiņām u.c.), elpceļu persistējošu kairinājumu, sliktu plaušu attīstības un nobriešanas anamnēzi, dzimumu, sociāli ekonomisko stāvokli, elpceļu slimībām (Lange et al., 2015).

Dažādu riska faktoru ietekmē veidojas oksidatīvs stress un hronisks iekaisums, kas vairumā gadījumu nosaka visu citu (piemēram, lokālas fibrozes) procesu veidošanos un norisi. Sākotnēji dažādu faktoru kompleksa kombinācija izraisa destruktīvo procesu pārsvaru pār audu aizsargmehānismiem, kas izraisa plaušu bojājuma manifestāciju. Pat maksimāli eliminējot riska faktorus, iekaisums HOPS gadījumā saglabājas un pat turpinās (Di Stefano et al., 2002; Bagdonas et al., 2015). Segepitēlija kairinājums izraisa signālmolekulu izdali no epitēlijšūnām, kas iekaisumā iesaista arī citas šūnas. Vienas no svarīgākajām hroniska iekaisuma veidotājām un uzturētājām ir šūnas ar imūnām funkcijām, piemēram, neitrofilie leikocīti un makrofāgi, kas saņem virkni inducējošu faktoru, veido un izdala proteolītiskos enzīmus un degradē audu struktūrkomponentes, kā arī pastiprina iekaisuma reakcijas norisi. Attiecīgi hronisku iekaisumu, audu destrukciju un remodelācijas procesus HOPS

gadījumā nosaka molekulāri un šūnu mehānismi (Kobayashi & DeLeo, 2009). Pat audu bojājumā radušās molekulas ierosina un uztur iekaisuma procesus (Salvi & Barnes, 2009; Bagdonas et al., 2015). HOPS attīstībā būtiska loma ir kompleksi starpsūnu signālceļiem ar neskaitāmu citokīnu un hemokīnu iesaisti, kā arī remodelācijas procesiem, kas savukārt izraisa HOPS patoģenēzē nozīmīgu audu mehānismu kaskādi. Tālāk audos noritošās pārmaiņas izraisa elpceļu obstrukciju. Nosauktie molekulārie un audu mehānismi uztur HOPS raksturīgo klīnisko ainu un simptomātiku, kas laika gaitā pasliktinās līdz ar HOPS progresēšanu (Sarir et al., 2008).

Ārējās vides faktoru ietekmē radies oksidatīvais stress vai tiešs šūnu bojājums ierosina iekaisuma reakcijas veidošanos, kas tālāk veido kopējo HOPS klīnisko ainu. Piemēram, karstuma šoka proteīns-70 (*Hsp-70*), inducējot iekaisuma citokīnu – interleikīna (*IL*) *IL-6* un *IL-8* – izdalī, ir līdzatbildīgs šūnu bojājuma apstākļos papildus noritošai iekaisuma reakcijai (Hulina-Tomašković et al., 2019). No HOPS patoģenēzē nozīmīgām bioloģiskām molekulām un to signālpārnēsēm jāmin citokīni – interleikīns (*IL*) *IL-1* (*IL-1 α* , *IL-1 β*) un *IL-33* (Gabryelska et al., 2019), *IL-6*, *IL-8* (Wu et al., 2014; Lee et al., 2018), *IL-4*, *IL-7* (Perotin et al., 2014; Shibata et al., 2018; Wei & Sheng Li, 2018), *IL-10* (Castellucci et al., 2015), *IL-12* (Zhou et al., 2018) – un audzēju nekrozes faktors alfa (*TNF- α*) (Bai et al., 2019). Iepriekš nosauktie faktori nosaka iekaisuma reakcijas veidošanos, kas HOPS gadījumā ir hroniska un progresējoša (Cho et al., 2019). Tikpat nozīmīgi ir audu remodelācijas notikumi, kuros viens no galvenajiem ierosinātājiem ir transformējošais augšanas faktors beta (*TGF- β*). *TGF- β* ietekmē audu morfoloģiskās pārmaiņas, regulē imūnās sistēmas funkcijas un iekaisuma reakciju norisi, kā arī piedalās audu remodelācijas, fibrozes, brūču dzīšanas procesos. Šī multifunkcionalitāte ir variabla un mainīga, pirmkārt, citu faktoru (augšanas, iekaisuma, pretiekaisuma, iekaisuma reakciju modulējošu molekulu) vidē. *TGF- β* efektu izvērtējumā noteikti jāņem vērā audu pārmaiņu kopējais konteksts (Saito et al., 2018). Audu bojājuma gadījumā, ko ierosina

oksidatīvais stress un iekaisuma reakcija, remodelācijas procesos nozīmīgi ir ārpusšūnu matricas degradācijas procesi. Audu strukturālo komponentu peptidāzes (matricas metaloproteināzes, piemēram, matricas metaloproteināze-2 (*MMP-2*)) degradē ārpusšūnu matricas kolagēnu, elastīnu, bazālo membrānu, laminīnu, fibronektīnu (Turino, 2007). Matricas metaloproteināzes audu inhibitori-2 (*TIMP-2*) ar potenciālu veicināt audu dzīšanu ir būtisks *MMP-2* antagonists. *TIMP-2* un *TGF-β1* palielināts daudzums ir saistīts ar labāku audu dzīšanu, kas savukārt ir saistīta ar labāku elpceļu funkcionalitāti HOPS gadījumā (Ghanei et al., 2010; Gosselink et al., 2010). Antimikrobiālie peptīdi – cilvēka beta defensīni (*hBD*) – ir būtiska iedzimtās imunitātes daļa. Cilvēka beta defensīns *hBD-2* ir atrasts dažādu cilvēka dobūmorgānu epitēlijā. *hBD-2* funkcionē kopā ar citiem antimikrobiāliem proteīniem, tādiem kā lizozīms un laktoferīns (Jarczak et al., 2013), kā arī spēj hemotakses ceļā aktivēt monocītus, makrofāģus, neitrofilos leukocītus, nenobriedušas dendrītiskās šūnas (Winter & Wenghoefer, 2012). *hBD-3* piemīt izteikta antibakteriāla un antivirāla darbība, turklāt arī *hBD-3* darbojas kā hemotakses faktors (Harder et al., 2001). *hBD-4* ir izteikta antimikrobiāla daba, un tas ir funkcionāli aktīvāks par *hBD-2* un *hBD-3* (Yanagi et al., 2005).

HOPS diagnozi un slimības smaguma pakāpi nosaka pēc vispārpieņemtajiem definētajiem diagnostiskajiem kritērijiem. HOPS diagnozi pamato pacienta sūdzības (pastāvīgi simptomi – elpas trūkums, klepus ar/vai bez krēpām, sēkšana), pacienta sūdzību smaguma izvērtējums, objektīva izmeklēšana (gaisa plūsmas traucējumi, t.sk. spirometrijas dati), riska faktori (t.sk. smēķēšana, āra un iekštelpu gaisa piesārņojums, arodriski). HOPS diagnozi pamato arī patoloģiskas pārmaiņas elpceļos un/vai alveolās (Rabe et al., 2007; Vogelmeier et al., 2017). Bronhoskopiskās izmeklēšanas atradne HOPS gadījumā var būt dažāda, iekļaujot tādas pārmaiņas kā hronisks endobronhīts ar dažāda rakstura (katarāla, strutaina, gļotaina) sekrēta atradni, bronhu sienas sabiezēšana vai pretēji – sienas atrofija, turklāt nereti novēro neviendabīgu abu

pārmaiņu atradni dažādos bronhos (Fathy et al., 2016). Mikroskopiskā atradne HOPS un bronhiālās astmas gadījumā var būt līdzīga, ietverot bronhu epitēlija deskvamāciju, epitēlija metaplāziju, variablu un/vai reģionālu bazālās membrānas sabiezēšanu (HOPS gadījumā ap 50 % pacientu, bronhiālās astmas gadījumā – ap 90 % pacientu), gļotādas un zemgļotādas iekaisumu, iekaisuma šūnu infiltrāciju (predominējoši neitrofilo leukocītu, *CD8+* T limfocītu un makrofāgu infiltrāciju HOPS gadījumā, eozinofilo leukocītu infiltrāciju – bronhiālās astmas gadījumā), bronhu dziedzeru un gludās muskulatūras hiperplāziju (Pesci et al., 1998; Arafah et al., 2018). HOPS pacientu subjektīvā anamnēze un plaušu funkcionālie rādītāji (t.sk. HOPS diagnozes smaguma pakāpe) var atšķirties no endoskopiskās atradnes un audu lokālajām pārmaiņām (Köktürk et al., 2003). Klīnisko kritēriju neprecizitāte un neatbilstība objektīvi novērojamām makroskopiskām un mikroskopiskām audu pārmaiņām rosina meklēt lokālu morfoloģisko marķieru noteikšanas iespējas HOPS precīzai diagnostikai.

Būtiski, ka dažādu marķieru pētījumos tos apskata kompleksi, aprakstot saistītu iekaisuma un citu norišu (fibrozes, audu destruktijas u.c.) ainu HOPS skartos plaušu audos, tomēr visbiežāk ir plaši pētīti tādi marķieri kā iekaisuma citokīni *IL-1 α* , *IL-8*, *TNF- α* , pretiekaisuma citokīns *IL-10*, remodelācijas marķieris *MMP-2*, augšanas faktors *TGF- β* , kā arī antimikrobiālais peptīds *hBD-2*. Šajā pētījumā pētīts daudz plašāks faktoru klāsts, ietverot arī maz pētītus faktorus (kopskaitā piecpadsmit) – iekaisuma citokīnus *IL-1 α* , *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF- α* , regulējošos citokīnus *IL-7* un *IL-12*, pretiekaisuma citokīnu *IL-10*, audu augšanas faktoru *TGF- β 1*, audu degradācijas enzīmu *MMP-2* un tā inhibitoru *TIMP-2*, šūnu un audu oksidatīvā stresa radīto bojājuma marķieri *Hsp-70*, kā arī antimikrobās aizsardzības faktorus *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4*. Kopumā šo faktoru izvēle ir balstīta uz pieejamo literatūru, kurā apgalvots, ka HOPS morfoloģiskie nosaka šūnu un audu bojājums oksidatīvā stresa apstākļos,

hroniska iekaisuma veidošanās ar attiecīgu audu bojājumu, kā arī audu lokālās imunitātes, t.sk. audu antimikrobiālās aizsardzības, pārmaiņas.

Līdz šim pretrunīgi un atsevišķi dati iegūti gan no dzīvnieku pētījumu HOPS modeļa, gan cilvēka HOPS skartu šūnu kultūru pētījumiem. Parasti tieši HOPS norises pētītas nelielam slimnieku klāstam audu šķidrums un šūnu kultūrās, ko ir nosacīti grūti attiecināt uz patiesajām audu norisēm. Tāpat pētījumos vispār trūkst ontogēnētiskā aspekta.

Darba mērķis

Darba mērķis bija noteikt un izvērtēt hroniskas obstruktīvas plaušu slimības (HOPS) skartu bronhu audu morfoloģisko raksturojumu, t.sk. ontogēnētiskā aspektā, analizējot tādu marķieru relatīvo daudzumu un sadalījumu audos, kas ir nozīmīgi hroniskā iekaisumā, audu remodelācijas pārmaiņās un lokālos aizsargmehānismos.

Darba uzdevumi

1. Izvērtēt bronhu un alveolāro struktūru morfoloģisko ainu plaušu audos hematoksilīna un eozīna krāsojumā HOPS pacientiem.
2. Noteikt iekaisuma citokīnu *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, regulējošo citokīnu *IL-7* un *IL-12*, pretiekaisuma citokīna *IL-10*, remodelācijā nozīmīgu faktoru – audu augšanas faktora *TGF-β1*, audu degradācijas enzīma *MMP-2* un tā inhibitora *TIMP-2*, šūnu un audu bojājuma marķiera *Hsp-70* –, kā arī antimikrobās aizsardzības faktoru *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnhistoķīmisko atradni kontroles grupas plaušu audos.
3. Noteikt iekaisuma citokīnu *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, regulējošo citokīnu *IL-7* un *IL-12*, kā arī pretiekaisuma citokīna *IL-10* imūnhistoķīmisko atradni HOPS pacientu plaušu audos.

4. Noteikt audu augšanas faktora *TGF- β 1*, audu degradācijas enzīma *MMP-2*, tā inhibitora *TIMP-2*, šūnu un audu bojājuma marķiera *Hsp-70* imūnhistoķīmisko atradni HOPS pacientu plaušu audos.
5. Noteikt antimikrobās aizsardzības faktoru *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnhistoķīmisko atradni HOPS pacientu plaušu audos.
6. Veikt audu faktoru datu statistisko apstrādi un statistiski analizēt iegūtos datus, salīdzinot to atradni kontroles grupai un HOPS pacientiem.
7. Izvērtēt HOPS skartu plaušu audu morfoloģisko pārmaiņu saistību ar pacientu klīnisko atradni, salīdzinot iegūtos datus ar pacientu anamnēzes datiem, funkcionālajiem rādītājiem, kā arī bronhoskopiskās atradnes datiem.
8. Noteikt ar vecumu saistītās pārmaiņas kontroles grupas un HOPS pacientu bronhu materiālā, salīdzinot dažādu audu faktoru imūnhistoķīmisko datu atradni ar vecumu un analizējot atšķirības dažādās vecuma grupās.

Darba hipotēzes

1. HOPS morfopatogēnēzi ietekmē hroniska iekaisuma, audu remodelācijas, šūnu un audu bojājuma, kā arī audu lokālās aizsardzības marķieru relatīvā daudzuma un sadalījuma pārmaiņas, ko ataino kompleksa šo marķieru savstarpējā mijiedarbība.
2. Dažādu audu faktoru relatīvais daudzums un sadalījums veselu cilvēku un HOPS skartos plaušu audos mainās novecošanas gaitā.

Darba novitāte

Šajā pētījumā aprakstīta citokīnu, remodelācijā nozīmīgu faktoru, kā arī antimikrobās aizsardzības faktoru atradne relatīvi veselu pacientu un HOPS pacientu plaušu audos, izmantojot imūnhistoķīmisko metodi. Kopumā līdz šim zinātniskajās publikācijās kompleksi dati par relatīvi veselu un HOPS skartu bronhu audu morfoloģiju un imūnreaktīvo struktūru atradni, kas norāda uz lokālām pārmaiņām audos, nav atrodami. Lielākajā daļā publikāciju tik plaši

pētīti marķieri kā interleikīni u.c. ir aplūkoti atsevišķi vai dažu marķieru kombinācijās. Piemēram, hroniska iekaisuma norises lokāli audos ietekmē arī remodelācijas procesus, uz ko norāda šo faktoru savstarpējā mijiedarbība. Identificēti vairāki faktori, kuru atradne un savstarpējā mijiedarbība norāda uz daudz plašākām funkcijām, nekā līdz šim aprakstīts. Dažādu faktoru atradne novecošanās aspektā relatīvi veselu indivīdu un HOPS pacientu plaušu audos, kas ir būtiska šī pētījuma sadaļa, ir maz pētīta. Ar vecumu saistītā vispārējā iekaisuma (*inflammaging*) gadījumā datu par plaušu novecošanos un lokālu ar iekaisuma reakciju saistītu marķieru atradni ir maz. Pēdējos gados Latvijā veiktu pētījumu pulmonoloģijas nozarē vai par elpošanas sistēmas veselību ir maz. Tādējādi mūsu pētījums par kompleksu faktoru atradni HOPS pacientu plaušu audos ir uzskatāms par novatorisku un praktiski plašāko līdz šim veikto. Iepriekš minētais nosaka pētījuma aktualitāti un pamato pētījuma nozīmi morfoloģijā, fundamentālajā un klīniskajā pulmonoloģijā.

Personīgais ieguldījums

Darba autore piedalījies visās pētījuma stadijās, veikusi pētījumā analizētā audu materiāla sagatavošanu rutīnas histoloģiskās krāsošanas un imūnhistoķīmiskās metodes analīzei, veikusi zinātnisko datu ieguvu un statistisko analīzi, ir sarakstījusi šo darbu un ir visu darbā iekļauto mikrofotogrāfiju autore.

Ētiskie aspekti

Pētījuma autori un pētījumā iesaistītie apliecina, ka pētījumu apstiprinājusī Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Attīstības biedrības Klīniskās izpētes ētikas komiteja. Ētikas komitejas atļauja (pozitīvs atzinums) pētījuma veikšanai sniegts 2013. gada 23. janvārī (Nr. 230113-17L).

Promocijas darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Tas sastāv no 5 nodaļām: literatūras apskata, materiāla un metožu apraksta, rezultātiem, diskusijas un secinājumiem. Promocijas darba apjoms ir 290 lappuses, 42 tabulas, 125 attēli, no tiem 65 grafiki un 60 mikrofotogrāfijas; literatūras saraksts sastāv no 419 avotiem. Kopsavilkuma apjoms ir 89 lappuses, t.sk. 3 tabulas, 15 attēli (mikrofotogrāfijas) un literatūras saraksts, kas sastāv no 169 avotiem.

1. MATERIĀLS UN METODES

1.1. Morfoloģiski izmeklējamais materiāls

Pētījuma pacientu grupa bija 40 pacienti ar klīniski un funkcionāli noteiktu HOPS diagnozi (vieglas līdz smagas norises HOPS). HOPS diagnoze un slimības smaguma pakāpe tika noteikta pēc vispārpieņemtajiem definētajiem diagnostiskajiem kritērijiem. No visiem HOPS pacientiem 36 plaušu audu materiāls tika iegūts fibrobronhoskopiskās izmeklēšanas laikā lokālā anestēzijā ar videobronhoskopu, iegūstot vairākas bronhu gļotādas biopsijas no labās daivas segmentārajiem bronhiem diagnostiskiem mērķiem (no 2012. līdz 2018. gadam), bet četriem audu materiāls iegūts no Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Anatomijas un antropoloģijas institūta (AAI) audu vēsturiskās audu materiālu kolekcijas (no 1998. līdz 1999. gadam).

No pētījuma pacientiem 39 pacienti bija vīrieši, bet viens pacients – sieviete. HOPS visu pacientu vecums bija no 53 līdz 88 gadiem. HOPS ilgums (gados) 34 pacientiem variēja no viena gada līdz 25 gadiem. Smēķēšanas fakts ar aprēķinātu paciņu gadu rādītāju reģistrēts 35 HOPS pacientiem, kas variēja no 10 līdz 70 *p/g*. Ar spirometrijas metodi 35 pacientiem tika noteikti plaušu funkcionālie mērījumi FEV_1 (forsētas izelpas vienas sekundes tilpums; procentuāli (%) un tilpumvienībās (litri)), FVC (forsētā vitālā kapacitāte; procentuāli (%) un tilpumvienībās (litri)), kā arī aprēķināts Tiffno indekss (*Tiffeneau-Pinelli index*) jeb attiecība starp FEV_1 un FVC . HOPS pacientiem tika noteikts FEV_1 (%) no 20,4 līdz 100, FEV_1 (L) no 0,61 līdz 3,10, FVC (%) no 19,33 līdz 95,8, FVC (L) no 0,74 līdz 4,55, FEV_1/FVC no 0,289 līdz 0,7251.

No visiem HOPS pacientiem 36 pacientiem bronhoskopiskajā atradnē tika noteiktas gļotādas sienas hipertrofiskas vai atrofiskas pārmaiņas, hronisks endobronhīts, kā arī deformācijas.

Kontroles materiāls tika iegūts *post mortem* autopsijā no nelaimes gadījumos un ne no elpceļu slimībām mirušiem 49 dažāda vecuma indivīdiem

vai plaušu operācijas laikā. Kontroles grupā iekļauti 37 vīrieši un 12 sievietes vecumā no deviņiem līdz 95 gadiem. Audu materiāls tika iegūts no RSU AAI arhīva kolekcijas (savākts no 1993. līdz 1995. gadam). Autopsijā tika iegūts bronhu sienas audu materiāls skrimšļa bronhu (galveno un lobāro) rajonā, kas saturēja arī plaušu parenhīmas materiālu. Kontroles grupas 20 pacientu nāves iemesls bija nelaimes gadījumi vai letāla pašsavainošānās (ķermeņa daļu un orgānu traumatisms, pašnāvība, kas nebija savienojami ar dzīvību). No 15 pacientiem kontroles grupā plaušu audu materiāls tika iegūts operācijas laikā. No visiem kontroles grupas indivīdiem 14 indivīdu nāves iemesls bija saistīts ar akūtu sirds un asinsvadu nepietiekamību un/vai sirds išēmisko slimību (nāves iemesls – sirdsdarbības apstāšanās).

1.2. Morfoloģiskās izmeklēšanas metodes

1.2.1. Audu materiāla fiksācija un griezumus sagatavošana

Rutīnas histoloģiskās krāsošanas un imūnhistoķīmiskās metodes veikšanai pētāmais materiāls tika apstrādāts RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā.

Pēc audu iegūšanas procedūras pētījuma indivīdu 1 cm³ plaušu audu materiāls tika fiksēts *Stefanini (Zamboni)* audu fiksācijas šķīdumā (Stefanini et al., 1967). Uzglabāšanu veica ledusskapī. Audu materiāls pēc fiksācijas tika nogādāts Morfoloģijas laboratorijā, kurā 24 stundas skalots ar *Tyrode's* šķīdumu, savukārt atūdeņošanai un attaukošanai tika izmantots spirts. Audu materiāls tika dehidratēts dažāda pieaugoša atšķaidījuma (50–95°) etanola šķīdumos 30 minūtes, 1–2 stundas, 3–4 stundas, 24 stundas. Audu materiālu attīrīja, izmantojot divus secīgus ksilola šķīduma skalojumus 1 stundu. Fiksētais audu materiāls tika sagatavots ieliešanai parafīna blokos. Parafīna maisījums tika homogenizēts un audi infiltrēti 3 stundas ilgi, lietojot parafīnu divas reizes. Izkausētajā parafīnā ieguldīto audu materiālu sacietināja parafīna blokā, no kā tālāk sagatavoja audu griezumus rutīnas histoloģiskās krāsošanas un

imūnhistoķīmiskajai metodei. Audu materiāls parafīna blokā tika sagriezts sērījveida 3–4 µm biezās griezumās, izmantojot laboratorijas pusautomātisko rotācijas mikrotomu (*Leica RM2245, Leica Biosystems Richmond Inc., ASV*). Audu materiāla griezumi no mikrotoma žiletas tika pārnesti ūdenī (48–50 °C) un pēc tam uz priekšmetstiklīša (*6130603, Histobond®+, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*). Uz priekšmetstiklīšiem uzklātie audu griezumi tika ievietoti žāvēšanai termostatā 56 °C 20–60 minūtes.

1.2.2. Rutīnas histoloģiskā krāsošanas metode

Audus rutīnas histoloģiskai krāsošanai sagatavoja, veicot deparafinizāciju. Parafīns no audu mikropreparātiem tika izskalots ar diviem secīgiem ksilola šķīduma skalojumiem 10 minūtes. Audu materiālu dehidratēja, izmantojot 96° etanola šķīdumu. Sagatavotie audu griezumi tika krāsoti ar hematoksilīnu (*05-M06002, Mayer's; Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*) un eozīnu (*05-B10003, Mayer's; Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*). Audu rutīnas histoloģiskajā krāsošanā ar hematoksilīnu un eozīnu krāsotie audu griezumi sniedza pārskata morfoloģisko ainu. Pārskata griezumās šūnu un audu bazofilās struktūras krāsojās zilgani violetas, bet acidofilās struktūras – sārti rozā (Lillie et al., 1976). Audu materiāls pēc krāsošanas tika atūdeņots ar 70–96° etanolu 9 minūtes, dzidrināts ar karboksilolu un ksilolu. Nokrāsotajiem audu griezumiem uzpildināja histoloģiskās līmes pilienu (*Pertex līme, Lot 1710013, Histolab Products AB, Zviedrija*), un tie tika pārklāti ar 0,13–0,16 mm segstiklīšu (*H875.2, Carl Roth GmbH + Co, Vācija*). Audu materiāls rutīnas histoloģiskajā krāsojumā tika analizēts gaišā lauka gaismas mikro-skopijā ar *Leica DC 300F* kameras mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc., ASV*). Ar rutīnas histoloģisko krāsošanas metodi sagatavotajam audu materiālam tika veikts pārskata morfoloģiskais novērtējums, analizējot šādu atradni: bronhu daudzrindu skropstņepitēlijs (epitēlijšūnu deskvamācija, metaplāzija, epitēlijšūnu hiperplāzija, iekaisuma šūnu infiltrācija); bazālā membrāna

(sabiezēta bazālā membrāna); gļotādas saistaudi (fibroze, granulācijas audi, iekaisuma šūnu infiltrācija, kas izvērtēta bronhu sienā un/vai perivaskulāri pēc sekojošas shēmas: 1) iekaisuma šūnu infiltrāciju nenovēro (vērtējums 0); 2) neliela, lokāla atsevišķu šūnu infiltrācija (vērtējums 1); 3) iekaisuma šūnu infiltrācija mēreni izteikta (vērtējums 2); 4) būtiski izteikta iekaisuma šūnu infiltrācija (vērtējums 3); bronhu dziedzeri (hipertrofija, iekaisuma šūnu infiltrācija); bronhu gludā muskulatūra (hiperplāzija); mikrocirkulācijas asinsvadi (sabiezēta asinsvadu sieniņa, perivaskulāra fibroze).

1.2.3. Biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmiskā metode un reaktīvi

Izmantojot biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi (Hsu et al., 1981; Mori & Cardiff, 2016), kontroles grupas un HOPS pacientu audu griezumus tika noteikti iekaisuma, regulējošo un pretiekaisuma citokīnu, audu remodelācijas un antimikrobās aizsardzības faktoru relatīvais daudzums un sadalījums. Dati par pētījumā izmantotajām antivielām apkopoti 1.1. tabulā.

1.1. tabula

Imūnhistoķīmiskajā metodē izmantotās antivielas

Nr. p.k.	Antiviela	Kods	Dzīvnieks, no kura iegūta anti- viela	Darba atšķaidījums	Ražotājs
1	<i>IL-1α</i>	<i>sc-9983</i>	pele	1:50	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
2	<i>IL-4</i>	<i>orb10908</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
3	<i>IL-6</i>	<i>sc-73319</i>	pele	1:50	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
4	<i>IL-7</i>	<i>orb48420</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
5	<i>IL-8</i>	<i>sc-1269</i>	kaza	1:50	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
6	<i>IL-10</i>	<i>P22301</i>	trusis	1:400	<i>Nordic BioSite, Zviedrija</i>
7	<i>IL-12</i>	<i>orb10894</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>

1.1. tabulas turpinājums

7	<i>IL-12</i>	<i>orb10894</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
8	<i>TNF-α</i>	<i>ab6671</i>	trusis	1:100	<i>Abcam, Lielbritānija</i>
9	<i>TGF-β1</i>	<i>orb7087</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
10	<i>MMP-2</i>	<i>sc-53630</i>	pele	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
11	<i>TIMP-2</i>	<i>sc-21735</i>	pele	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
12	<i>Hsp-70</i>	<i>585054A</i>	pele	1:100	<i>Invitrogen, Itālija</i>
13	<i>hBD-2</i>	<i>sc-20798</i>	trusis	1:200	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
14	<i>hBD-3</i>	<i>rb183268</i>	trusis	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
15	<i>hBD-4</i>	<i>ab14419</i>	pele	1:200	<i>Abcam, Lielbritānija</i>

Saīsinājumi tabulā: *IL-1 α* , -4, -6, -7, -8, -10, -12 – interleikīns-1 alfa, -4, -6, -7, -8, -10, -12; *TNF- α* – audzēju nekrozes faktors alfa; *TGF- β 1* – transformējošais augšanas faktors beta 1; *MMP-2* – matricas metaloproteināze-2; *TIMP-2* – *MMP-2* audu inhibitors; *Hsp-70* – karstuma šoka proteīns-70; *hBD-2*, -3, -4 – cilvēka beta defensīns-2, -3, -4.

Iegūtā plaušu audu materiāla fiksācija, sagatavošana ieguldīšanai parafīna blokos un griezumiem tika veikta pēc iepriekš aprakstītās shēmas (sk. 1.2.1. nodaļu). No audu materiāla parafīna bloka tika iegūti 3–4 μ m biezi audu griezumumi, ko pārnesa uz priekšmetstikliņu un žāvēja termostatā. Tad veikta audu griezumu deparafinizācija ar ksilola šķīdumu un dehidratēti ar gradētu spirta šķīdumu. Deparafinizētie, skalotie un dzidrinātie audu griezumumi tika ievietoti turētājā un skaloti ar *TRIS* buferi (*2017X12508*, *Diapath S.p.A.*, Itālija) 10 minūtes. Veikta audu materiāla vārīšana *EDTA* (pH 9,0) buferī (*2017X02239*, *Diapath S.p.A.*, Itālija) mikroviļņu krāsnī 10 minūtes. Konteiners ar audu paraugiem pēc vārīšanas *EDTA* buferī tika atdzesēts līdz 65 °C. Turētāju ar audu paraugiem ievietoja *TRIS* mazgāšanas buferī. Endogēnā peroksidāze tika bloķēta ar 3 % peroksidāzes bloku (*K400611*, *Dako*, Dānija) 10 minūtes. Tad tika veikta skalošana ar *TRIS* mazgāšanas buferi 10 minūtes. Visas pētījumā izmantotās antivielas tika atšķaidītas ar atšķaidītāju *Antibody Diluent* (*938B-05*, *Cell MarqueTM*, ASV).

Peles vai truša izcelsmes antivielām tika lietota *HiDef DetectionTM HRP* polimēra sistēma (954D-30, *Cell MarqueTM*, ASV). Tika veikta inkubācija ar primāro antivielu 2 stundas. Audu paraugus mazgāja *TRIS* mazgāšanas buferī 10 minūtes. Pēc tam tika izmantots *HiDef DetectionTM HRP* reakcijas amplifikators (954D-31, *Cell MarqueTM*, ASV) istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc tam audu materiāls tika skalots *TRIS* mazgāšanas buferī 10 minūtes. Tad tika izmantots *HiDef DetectionTM HRP* polimēra iezīmētājs (954D-32, *Cell MarqueTM*, ASV) istabas temperatūrā 10 minūtes.

Kazas izcelsmes antivielām tika izmantota *ImmunoCruzTM ABC* krāsošanas sistēma (sc-2023, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, ASV). Tā ietver biotīnu saturošas sekundāras un terciālas antivielas. Audu materiālu inkubēja 1,5 % bloķēšanas serumā *TRIS* bufera šķīdumā istabas temperatūrā līdz vienai stundai. Tika veikta audu materiāla inkubācija ar primāro antivielu līdz vienai stundai. Audu materiālu skaloja *TRIS* mazgāšanas buferī 10 minūtes. Audu griezumus tika inkubēti ar biotīnu saturošu sekundāro antivielu 30 minūtes un atkal skalots 10 minūtes *TRIS* mazgāšanas buferī. Audu griezumus tika inkubēti ar biotīnu saturošu terciāro antivielu 30 minūtes.

Visi imūnhistoķīmiski apstrādātie audu griezumus tika skaloti *TRIS* mazgāšanas buferī 10 minūtes. Audi tika pārklāti ar šķidrā *DAB+* substrāta hromogēno sistēmu *DAB Substrate Kit* (957D-60, *Cell MarqueTM*, ASV), kā arī veikta audu griezumus inkubēšana istabas temperatūrā līdz 10 minūtēm ilgi, iegūstot imūnreaktīvo struktūru krāsojumu brūnā krāsā. Tad griezumus mazgāja destilētā ūdenī 5 minūtes. Pēc tam tika veikta audu kontrastkrāsošana ar hematoksilīnu (05-M06002, *Mayer's Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija) 2 minūtes. Tālāk ar antivielām apstrādātais audu materiāls tika atūdeņots ar 70°–96° etanola šķīdumiem. Audu griezumus tika dzidrināti ar karboksilolu un ksilolu. Uz audu griezuma uzklāja *Pertex* līmes pilienu un pielīmēja segstikliņu.

Pētījuma audu preparātu paralēliem griezumiem tika pagatavoti arī negatīvās un pozitīvās kontroles preparāti.

1.3. Datu apstrādes metodes

Audu materiāls rutīnas histoloģiskajā krāsojumā tika analizēts gaišā lauka gaismas mikroskopijā ar *Leica DC 300F* kameras mikroskopu. Iegūtie attēli tika analizēti ar attēlu apstrādes programmatūru *Image Pro Plus 6.0* (*Media Cybernetics*, ASV). Attēlu vizualizācijai un apstrādei tika izmantotas attēlu apstrādes programmas *Photo Pos Pro 3.2* (*Power Of Software LTD.*, Izraēla) un *paint.net* (*dotPDN LLC & Rick Brewster*, ASV).

1.3.1. Puskvantitatīvā metode

Imūnreaktīvo struktūru (šūnu) daudzums tika skaitīts, izmantojot puskvantitatīvo skaitīšanas metodi (Tobin et al., 1990; Pilmane et al., 1998):

- 0 – redzes laukā netiek konstatētas imūnreaktīvas struktūras;
- 0/+ – redzes laukā ir retas imūnreaktīvas struktūras;
- + – redzes laukā maz imūnreaktīvo struktūru;
- +/++ – redzes laukā maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvo struktūru;
- ++ – redzes laukā vidēji daudz imūnreaktīvo struktūru;
- ++/+++ – redzes laukā vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvo struktūru;
- +++ – redzes laukā daudz imūnreaktīvo struktūru;
- +++ /++++ – redzes laukā daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvo struktūru;
- ++++ – redzes laukā ļoti daudz imūnreaktīvo struktūru.

Šūnas, kuru šūnas kodols/citoplazma imūnhistoķīmiskajā reakcijā tika iezīmēta brūnā krāsā, tika uzskatītas par imūnreaktīvām (imūnpozitīvām).

Imūnreaktīvās struktūras (šūnas) tika analizētas šādās audu grupās un plaušu materiāla lokalizācijās: bronhu epitēlijs; bronhu gļotādas saistaudi; gļotādas mikrocirkulācijas asinsvadu sienīņa; bronhu gludā muskulatūra; bronhu dziedzeri; bronhu hialīnais skrimslis; alveolārais epitēlijs; alveolārie makrofāgi. Imūnreaktīvās (pozitīvās) struktūras izvērtēja piecos nejauši izvēlētos redzes laukos četršimt reižu ($\times 400$) palielinājumā katram audu griezumam materiālam.

1.3.2. Datu statistiskās apstrādes metodes

Datu statistiskā apstrāde tika veikta, izveidojot rangu (ordinālu vērtību) skalu un kategorizējot iegūtos datus atbilstoši saskaitīto imūnreaktīvo šūnu skaitam no 0 (netiek konstatētas imūnreaktīvas šūnas) līdz 4,0 (ir ļoti daudz imūnreaktīvo šūnu). Datu normālsadalījums tika pārbaudīts ar Kolgomorova–Smirnova vienas izlases testu. Imūnhistoķīmisko datu statistiskajā apstrādē tika izmantotas neparametriskās statistiskās metodes. Datiem tika izvērtēta mediāna un starpkvartiļu amplitūda. Divu atkarīgu grupu salīdzināšanai tika izmantots Vilkoksona metodes kritērijs divu atkarīgu grupu salīdzināšanai un rangu zīmju tests. Manna–Vitnija tests tika izmantots, lai noteiktu atšķirības starp pētāmo marķieru imūnreaktīvo šūnu skaitu atšķirīgās audu grupās un lokalizācijās HOPS pacientiem attiecībā pret kontroles grupas pacientiem. Divu pazīmju savstarpējās sakarības (korelācijas) analīzē tika lietota Spīrmena neparametriskās korelāciju analīzes metode. Korelācijas ciešuma klasifikācija atkarībā no korelācijas koeficienta r_s lieluma bija šāda: $|r_s| = 0–0,3$ – nenožīmīga, $|r_s| = 0,3–0,5$ – vāja, $|r_s| = 0,5–0,7$ – vidēja, $|r_s| = 0,7–0,9$ – vidēji cieša, $|r_s| = 0,9–1,0$ – ļoti cieša korelācija. Ar visām datu statistiskās apstrādes metodēm iegūti rezultāti bija uzskatāmi par statistiski nozīmīgiem, ja p vērtība ir $< 0,05$. Datu statistiskā apstrāde un vizualizācija tika veikta ar statistikas programmatūru *IBM SPSS 23*. versiju (*IBM Company*, ASV) un *GraphPad Prism 8.3.0 software* (*GraphPad Software*, ASV).

1.4. Vecuma grupu definīcija ar vecumu saistīto pārmaiņu analīzē

Šajā pētījumā analizētās ar vecumu saistītās pārmaiņas noteiktas, izšķirot 9–20 gadus, 21–34 gadus, 35–49 gadus, 50–64 gadus, 65–74 gadus, kā arī 75 gadus un vairāk vecu indivīdu vecuma grupas (Halbert et al., 2006; Moliva et al., 2014; Thannickal et al., 2015; Budinger et al., 2017; WHO, 2019b).

2. REZULTĀTI

2.1. Morfoloģisko datu raksturojums kontroles grupas pacientiem un HOPS pacientiem

Visiem 49 kontroles grupas pacientiem audu materiālā atrada lielā bronha sienīņu, bet 25 kontroles pacientu audu materiālā papildus noteica arī plaušu parenhīmas (alveolāro struktūru) materiālu. Visu 49 kontroles grupas pacientu plaušu audu materiālā konstatējām praktiski neizmainītu un vispārpieņemtajai relatīvai normai atbilstošu plaušu histoloģisko ainu.

Visos 40 HOPS pacientu plaušu audu materiālos tika vizualizētas variabli izteiktas un dažādi lokalizētas hroniska iekaisuma un audu remodelācijas pārmaiņas. Pacientu audu materiāla morfoloģiskā atradne ietvēra iekaisuma šūnu infiltrāciju bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos un bronhu dziedzeros, granulācijas audus, sabiezētu bazālo membrānu, bronhu dziedzeru un gludās muskulatūras hiperplāziju un hipertrofiju, sabiezētu asinsvadu sienīņu. Par remodelācijas pārmaiņām liecināja fibroze, izteikti biezu saistaudu šķiedru kūlīšu atradne, kā arī sabiezēta bronhu sienīņa.

Visu 40 HOPS pacientu audu materiālā vizualizējām atšķirīgu bronhu epitēlija morfoloģisko atradni un atradām fragmentāru, neizteiktu epitēlija šūnu deskvamāciju. No visiem 40 HOPS pacientiem 24 pacientu bronhu epitēlijā tika konstatēti neizmainīta daudzrindu skropstiņepitēlija fragmenti, turklāt viena pacienta audu materiālā netika konstatēta neviena no pārmainīta epitēlija atradnēm; 37 pacientu audu materiālā bronhu epitēlijā fragmentāri tika konstatēta bazālo epitēlija šūnu hiperplāzija; 19 pacientu audu materiālā vizualizējām biezu mukoīdu epitēliju; 23 pacientiem tika konstatēta epitēlija metaplāzija.

Interesanti, ka pacientu audu materiālā dažādas epitēlija pārmaiņu atradnes kombinējās. Visiem HOPS pacientiem **epitēlija metaplāzijas** atradne bija saistīta ar sliktākiem un/vai variablākiem funkcionālajiem rādītājiem – FEV_1 (L) ($U = 50, p < 0,001$), FEV_1 (%) ($U = 75, p = 0,009$), FVC (L) ($U = 64,5$,

$p = 0,003$) FEV_1/FVC ($U = 69$, $p = 0,009$) – un attiecīgi ar HOPS smaguma pakāpi ($U = 96$, $p = 0,037$).

Pētījumā iekļauto 34 HOPS pacientu gļotādas saistaudos konstatējām fibrotiskas pārmaiņas ar daudziem blīvi novietotu saistaudu kolagēno šķiedru kūlīšiem, starp kuriem vizualizējām retas saistaudu šūnas. Daļā audu materiāla kolagēno šķiedru kūlīši bija izvietoti haotiski un neregulāri. HOPS pacientiem **fibrozes** atradne pārskata histoloģiskajos griezumos bija saistīta ar sliktākiem funkcionālajiem rādītājiem – FEV_1 (L) ($U = 36,5$, $p = 0,024$), FEV_1 (%) ($U = 41$, $p = 0,044$), FVC (L)) (L) ($U = 40,5$, $p = 0,04$).

Visu 40 HOPS pacientu bronhu epitēlijā un saistaudos tika novērota iekaisuma šūnu infiltrācija. Plaši limfocītus, neitrofilos leukocītus un makrofāgus saturoši iekaisuma infiltrāti variēja no neizteiktas atradnes (1) līdz izteikti daudz (3) iekaisuma šūnām visu HOPS pacientu bronhu audu materiālā. No visiem HOPS pacientiem 14 pacientu bronhu audu materiālā tika noteikta neizteikta eozinofilo leukocītu infiltrācija bronhu epitēlijā un/vai saistaudos. Bronhu epitēlijā tika noteikta limfocītu un neitrofilo leukocītu infiltrācija. Kopumā iekaisuma šūnu infiltrācija bronhu epitēlijā nebija izteikta (1). Bronhu gļotādas saistaudos tika atrasti neitrofilo leukocītu, limfocītu, makrofāgu, eozinofilo leukocītu un plazmocītu infiltrāti. Kopumā iekaisuma šūnu infiltrācija saistaudos bija vidēji izteikta (2), savukārt dziedzeros tā nebija izteikta (1). Iekaisuma šūnu **infiltrācijas pakāpe saistaudos** bija statistiski nozīmīgi lielāka nekā epitēlijā ($Z = -3,448$, $p = 0,001$) un dziedzeros ($Z = -4,433$, $p < 0,0001$).

Līdzās iekaisuma šūnu infiltrātiem gļotādas saistaudos 28 HOPS pacientiem vizualizēja arī **granulācijas audus**. Granulācijas audu atradne bija saistīta ar izteiktāku iekaisuma šūnu infiltrāciju saistaudos ($U = 95,5$, $p = 0,031$). Tāpat arī HOPS pacientiem granulācijas audu atradne bija saistīta ar ilgāku smēķēšanas anamnēzi (p/g) ($U = 60$, $p = 0,017$).

2.2. Ar biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi iegūto datu raksturojums un statistiskā analīze

2.2.1. Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmisko datu atradne un statistiskā analīze kontroles grupas pacientiem

Iekaisuma, regulējošie un pretiekaisuma citokīni

Interleikīns-1 alfa (*IL-1α*). Vairumam (36) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā un saistaudos neatradām nevienu (0) vai noteicām retas (0/+) *IL-1α* imūnreaktīvas šūnas, arī asinsvados, muskulatūrā un dziedzeros šo faktoru saturošas šūnas viņiem netika konstatētas (0), savukārt skrimslī visvairāk (16) pacientiem noteicām maz (+) *IL-1α* saturošu šūnu. Kontroles grupas pacientu alveolārajā plaušu materiālā *IL-1α* imūnreaktīvo šūnu daudzums izteikti variēja no negatīvas (0) atradnes līdz pat daudz (+++) tādu.

Interleikīns-4 (*IL-4*). Kopumā bronhu epitēlijā lielākajai daļai (26) kontroles grupas pacientu noteicām maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) , kā arī daudz (+++) *IL-4* imūnreaktīvo šūnu. Lielākajai daļai kontroles grupas pacientu saistaudos (44), asinsvados (38), muskulatūrā (33), dziedzeros (33) un skrimslī (31) netika konstatētas (0) vai arī noteicām retas (0/+) *IL-4* imūnreaktīvas šūnas, vai arī to bija maz (+). Alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā *IL-4* saturošo šūnu daudzums variēja – no nevienas (0) līdz pat daudz un ļoti daudz (+++/++++) tādām.

Interleikīns-6 (*IL-6*). Vairumam (25) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā konstatējām vai nu retas (0/+) *IL-6* imūnreaktīvas šūnas, vai arī to bija maz (+), kā arī maz līdz vidēji daudz (+/++). Lielākajai daļai (40) kontroles grupas pacientu nebija (0) vai arī tika noteiktas retas (0/+) *IL-6* saturošas šūnas saistaudos, asinsvados, muskulatūrā un dziedzeros, savukārt skrimslī lielākoties (22) noteicām maz (+) līdz vidēji daudz (++) *IL-6* pozitīvu šūnu. Daļai (24) kontroles pacientu tika noteiktas retas (0/+) *IL-6* saturošas šūnas, kā arī vidēji

daudz līdz daudz (++)/+++ šo šūnu alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā.

Interleikīns-8 (IL-8). Vairumam (37) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā un muskulatūrā nebija (0) *IL-8* imūnreaktīvo šūnu vai arī tās bija retas (0/+) un maz (+). Visiem kontroles grupas pacientiem *IL-8* imūnreaktīvo šūnu daudzums saistaudos, asinsvados, dziedzeros, skrimslī, kā arī alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā variēja no nevienas (0) līdz pat daudz (+++) šādu šūnu.

Audzēju nekrozes faktors-alfa (TNF-α). Vairumam kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā (37), gļotādas saistaudos (41), asinsvados (43), gludajā muskulatūrā (42), dziedzeros (40), kā arī skrimslī (31) vai nu neatradām *TNF-α* imūnreaktīvas šūnas (0), vai tādas noteicām lielākoties retas (0/+) un maz (+). Daļai kontroles pacientu alveolārajā plaušu materiālā *TNF-α* pozitīvo šūnu nebija (0) vai to bija maz (+) alveolārajā epitēlijā, bet alveolārajos makrofāgos – līdz pat daudz (+++).

Interleikīns-7 (IL-7). Kopumā lielākajai daļai (28) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā konstatējām maz (+) līdz vidēji daudz (++) *IL-7* saturošu šūnu, savukārt saistaudos, asinsvados, bronhu gludajā muskulatūrā un dziedzeros lielākajai daļai kontroles grupas pacientu (44) *IL-7* imūnreaktīvas šūnas netika konstatētas (0) vai arī tika noteiktas dažas (0/+) un maz (+) šādu šūnu, bet skrimslī lielākoties (30) atradām vidēji daudz (++) līdz daudz (+++) tādu. Alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā *IL-7* saturošu šūnu daudzums izteikti variēja no nevienas (0) līdz pat daudz un līdz ļoti daudz (+++/++++) šādu šūnu.

Interleikīns-12 (IL-12). Lielākajai daļai (33) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā konstatējām maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *IL-12* imūnreaktīvo šūnu. Lielākajai daļai kontroles pacientu (33) saistaudos un asinsvados neatradām nevienu (0) vai arī noteicām retas (0/+) un maz (+) *IL-12* imūnreaktīvas šūnas. Bronhu gludajā muskulatūrā, dziedzeros un

skrimslī noteicām lielākoties (36) maz (+) un maz līdz vidēji daudz (+/++) *IL-12* saturošu šūnu. Lielākajai daļai pacientu noteicām retas (0/+) vai maz (+) *IL-12* pozitīvas šūnas alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā.

Interleikīns-10 (*IL-10*). Lielākajai daļai (22) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā konstatējām maz (+) līdz vidēji daudz (+/++) *IL-10* imūnreaktīvo šūnu, bet gļotādas saistaudos, asinsvados, gludajā muskulatūrā un dziedzeros neatradām nevienu (0) vai arī noteicām retas (0/+) un maz (+) tādas. Bronhu skrimslī lielākoties (24) noteicām maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *IL-10* imūnreaktīvo šūnu. Lielākoties (22) kontroles grupā noteicām retas (0/+) *IL-10* imūnreaktīvos alveolocītus un alveolāros makrofāgus, kā arī maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) šādu šūnu.

Plaušu audu remodelācijas faktori

Transformējošais augšanas faktors- β 1 (*TGF- β 1*). Lielākajai daļai (22) kontroles pacientu bronhu epitēlijā konstatējām retas (0/+) *TGF- β 1* imūnreaktīvas šūnas un maz (+) tādu, bet saistaudos (47), asinsvados (39), gludajā muskulatūrā (33) un dziedzeros (33) nenoteicām (0) vai noteicām dažas (0/+) un maz (+) tādas. Skrimslī lielākoties (35) noteicām maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *TGF- β 1* imūnreaktīvo šūnu. Savukārt alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā lielākoties (25) noteicām retas (0/+), maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) *TGF- β 1* saturošu šūnu.

Matrices metaloproteināze-2 (*MMP-2*). Lielākajai daļai kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā (23), saistaudos (47), asinsvadu sienīnā (34), gludajā muskulatūrā (27) un dziedzeros (37) vai nu neatradām (0) *MMP-2* imūnreaktīvās šūnas, vai konstatējām retas (0/+), maz (+) un maz līdz vidēji daudz (+/++) tādu. Bronhu skrimslī *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaits variēja – dažos gadījumos to nebija (0), bet citos to bija daudz (+++). Alveolārajā plaušu audu materiālā lielākajai daļai (21) pacientu noteicām retas (0/+), maz (+), maz

līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *MMP-2* pozitīvu šūnu alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā.

Matrices metaloproteināzes-2 audu inhibitors (*TIMP-2*). Lielākajai daļai kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā (30), gļotādas saistaudos (46), asinsvadu sienīnā (43), gludajā muskulatūrā (33) un dziedzeros (39) vai nu neatradām (0) *TIMP-2* imūnreaktīvas šūnas, vai konstatējām retas (0/+), maz (+) un maz līdz vidēji daudz (+/++) šī faktora pozitīvas šūnas. Lielākajai daļai (35) kontroles skrimslī noteicām maz līdz vidēji daudz (+/++), vidēji daudz (++) un vidēji daudz līdz daudz (++/+++) *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu. Kontroles grupas alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā dominēja (21) maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu.

Šūnu un audu oksidatīvā stresa rādītāji

Karstuma šoka proteīns-70 (*Hsp-70*). Lielākajai daļai (20) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā konstatējām maz (+) *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu, bet saistaudos (47), asinsvados (38), gludajā muskulatūrā (32) un dziedzeros (37) vai nu neatradām (0) nevienu *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu, vai konstatējām retas šūnas (0/+) un maz (+) tādu. Lielākajai daļai (26) kontroles grupas indivīdu skrimslī noteicām maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu, bet alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā (21) – maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu.

Audu antimikrobās aizsardzības faktori

Cilvēka beta defensīns-2 (*hBD-2*). Lielākajai daļai (34) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā, saistaudos, asinsvados, muskulatūrā un dziedzeros vai nu neatradām (0) *hBD-2* imūnreaktīvas šūnas, vai konstatējām tikai retas (0/+) pozitīvas šūnas. Lielākajai daļai (33) kontroles grupas indivīdu skrimslī noteicām no maz un vidēji daudz (+/++) līdz daudz (+++) *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu.

Lielākajai daļai (21) kontroles pacientu alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā noteicām atsevišķas šūnas (0/+) līdz vidēji daudz (++)tādu.

Cilvēka beta defensīns-3 (*hBD-3*). Lielākajai daļai (28) kontroles grupas pacientu bronhu epitēlijā, saistaudos, asinsvados, gludajā muskulatūrā un dziedzeros neatradām (0) nevienu *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu vai konstatējām retas (0/+) šo faktoru saturošas šūnas. Lielākajai daļai pacientu skrimslī (31), alveolārajā epitēlijā un alveolāro makrofāgu kopā (18) bija gan atsevišķas (0/+) *hBD-3* imūnreaktīvās šūnas, gan vidēji daudz (++) tādu.

Cilvēka beta defensīns-4 (*hBD-4*). Lielākajai daļai kontroles pacientu bronhu epitēlijā (31), saistaudos (32), asinsvados (26), muskulatūrā (39) un dziedzeros (30) neatradām nevienu (0) *hBD-4* saturošu šūnu vai konstatējām tikai retas (0/+) *hBD-4* imūnreaktīvas šūnas. Lielākajai daļai kontroles indivīdu skrimslī (33), alveolārajā epitēlijā (21) un alveolāro makrofāgu kopā (15) noteicām atsevišķas (0/+) *hBD-4* imūnreaktīvās šūnas līdz vidēji daudz (++) tādu.

Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes relatīvais daudzums kontroles grupas pacientiem

Kopumā kontroles grupas pacientu audu materiālā vismazāk imūnreaktīvo šūnu noteicām gļotādas saistaudos, asinsvados, gludajā muskulatūrā, kā arī dziedzeros. No šīs atradnes īpaši jāizceļ statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) mazāks *IL-6* un *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu skaits gludajā muskulatūrā.

Kontroles grupas pacientu audu materiālā visvairāk imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu epitēlijā, skrimslī, alveolārajā epitēlijā, kā arī alveolāro makrofāgu kopā. Atsevišķi no šīs atradnes jāizceļ statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) lielāks *IL-4*, *IL-7* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, lielāks *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu skrimslī, kā arī lielāks *IL-8*, *TNF- α* un *TGF- β 1* imūnreaktīvo šūnu skaits alveolāro makrofāgu kopā. Statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) lielāks bija arī *IL-8* imūnreaktīvo

šūnu skaits asinsvados un *TNF- α* imūnreaktīvo šūnu skaits saistaudos, bet mazāks – *IL-12* saturošu alveolāro makrofāgu skaits (2.1. tabula).

Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes savstarpējā saistība kontroles grupas pacientiem

Atsevišķi jāmin statistiski nozīmīga ($p < 0,05$) *IL-1 α* , *IL-4*, *IL-6*, *TNF- α* , *IL-7*, *IL-10* imūnreaktīvo šūnu skaita savstarpējā saistība bronhu un alveolārajā epitēlijā, kā arī alveolāro makrofāgu kopā, kur papildus iepriekš minētajiem faktoriem jāatzīmē arī statistiski nozīmīga ($p < 0,05$) *TIMP-2*, *Hsp-70*, *TGF- β 1*, *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaita savstarpējā saistība.

2.1. tabula

**Relatīvais dažādu audu faktoru daudzums dažādās lokalizācijās
kontroles grupas pacientu ($N = 49$) plaušu audos**

	<i>E.</i>	<i>Sa.</i>	<i>A.v.</i>	<i>G.m.</i>	<i>Dz.</i>	<i>Sk.</i>	<i>A.e.</i>	<i>A.m.</i>
<i>IL-1α</i>	0/+	0/+	0	0	0	+	0/+	+
<i>IL-4</i>	+/++ *	0/+	0/+	0	0/+	0/+	+	+/++
<i>IL-6</i>	+	0/+	0/+	0 *	0	+	+	+/++
<i>IL-8</i>	0/+	+	++ *	0/+	+	++/+++	+	++ *
<i>TNF-α</i>	0	0/+ *	0	0	0	0/+	0/+	+/++ *
<i>IL-7</i>	+/++ *	0/+	+	0	0/+	++	+	+/++
<i>IL-12</i>	+/++	0/+	+	+/++	+/++	+	+	0/+ *
<i>IL-10</i>	+/++	+	+	0/+	0/+	++	+	+/++
<i>TGF-β1</i>	+	0/+	0/+	0	0/+	+	+	+
<i>MMP-2</i>	+	0/+	0/+	0	0/+	+/++ *	+	+
<i>TIMP-2</i>	+	0/+	+	0/+	0/+	++ *	+/++	+/++
<i>Hsp-70</i>	+	0/+	0/+	0 *	0/+	+/++	+/++	+
<i>hBD-2</i>	0/+	0/+	+	0	0/+	++ *	+/++	+/++
<i>hBD-3</i>	0/+	0/+	0/+	0/+	0/+	+/++ *	+/++	+
<i>hBD-4</i>	0/+	0/+	0/+	0	0	+	+/++	+

Saīsinājumi tabulā: *E.* – bronhu epitēlijs; *Sa.* – gļotādas saistaudi; *A.v.* – gļotādas asinsvadu sienīņa; *G.m.* – gludā muskulatūra; *Dz.* – bronhu dziedzeri; *Sk.* – bronhu skrimslis; *A.e.* – alveolārais epitēlijs; *A.m.* – alveolārie makrofāgi; *IL-1α*, -4, -6, -7, -8, -10, -12 – interleikīns-1 alfa, -4, -6, -7, -8, -10, -12; *TNF-α* – audzēju nekrozes faktors-α; *TGF-β1* – transformējošais augšanas faktors-β1; *MMP-2* – matricē metaloproteināze-2; *TIMP-2* – *MMP-2* audu inhibitors; *Hsp-70* – karstuma šoka proteīns-70; *hBD-2*, -3, -4 – cilvēka beta defēnsīns-2, -3, -4.

Apzīmējumi: 0 (0) – redzes laukā (r.l.) neatrod imūnreaktīvas (i.r.) šūnas; 0/+ (0,5) – r.l. retas i.r. šūnas; + (1.0) – r.l. maz i.r. šūnu; +++ (1.5) – r.l. maz līdz vidēji daudz i.r. šūnu; ++ (2.0) – r.l. vidēji daudz i.r. šūnu; ++++ (2.5) – r.l. vidēji daudz līdz daudz i.r. šūnu.

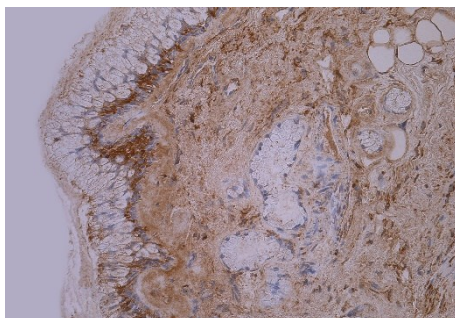
N – pacientu skaits.

* – statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0,05$).

2.2.2. Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskā atradne un statistiskā analīze HOPS pacientiem

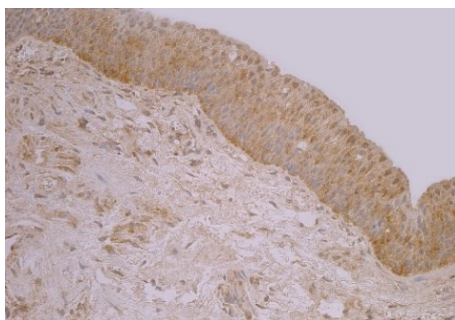
Iekaisuma, regulējošie un pretiekaisuma citokīni

Interleikīns-1 alfa (*IL-1α*). Vairumam (23) HOPS pacientu bronhu epitēlijā konstatējām lielākoties vidēji daudz līdz daudz (++)/+++, kā arī daudz (+++) un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) *IL-1α* saturošu šūnu, bet gļotādas saistaudos (18), asinsvadu sienīņā (19), gludajā muskulatūrā (34) un dziedzeros (21) *IL-1α* imūnreaktīvās šūnas bija retas (0/+) vai to bija maz (+) (2.1. attēls).



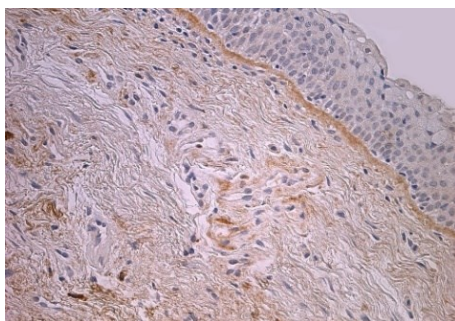
2.1. attēls. Vidēji daudz (++) *IL-1α* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā un maz (+) tādu gļotādas saistaudos, kā arī retas (0/+) *IL-1α* pozitīvas šūnas bronhu dziedzeros 78 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-1α* IHK, ×200

Interleikīns-4 (*IL-4*). Lielākajai daļai (16) HOPS pacientu bronhu epitēlijā konstatējām daudz (+++) *IL-4* imūnreaktīvo šūnu (2.2. attēls). Kopumā lielākajai daļai (30) HOPS pacientu bronhu saistaudos konstatējām maz (+), maz līdz vidēji daudz (++)/+++, vidēji daudz (++), vidēji daudz līdz daudz (+++/++++) *IL-4* imūnreaktīvo šūnu. Lielākajai daļai HOPS pacientu asinsvados (32), bronhu gludajā muskulatūrā (37) un dziedzeros (23) noteicām retas (0/+) imūnreaktīvas šūnas, un tādu bija arī maz (+), maz līdz vidēji daudz (++)/+++, vidēji daudz (++).



2.2. attēls. Daudz (+++) *IL-4* imūnreaktīvo šūnu metaplāzijas pārmainītā bronhu epitēlijā un vidēji daudz (++) tādu gļotādas saistaudos 60 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-4* IHĶ, ×200

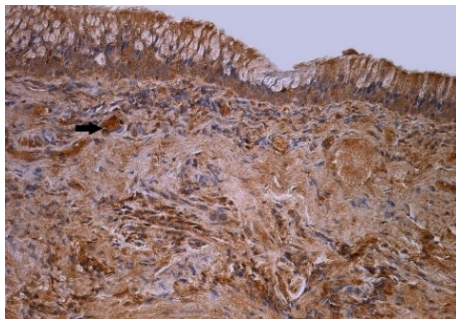
Interleikīns-6 (*IL-6*). HOPS pacientiem kopumā konstatējām variablu *IL-6* saturošu šūnu skaitu bronhu epitēlijā, proti, no nevienas (0) līdz daudz un līdz ļoti daudz (+++/++++) (2.3. attēls). Lielākajai daļai HOPS pacientu saistaudos (28), asinsvadu sienīņā (22), gludajā muskulatūrā (31) un dziedzeros (15) noteicām *IL-6* imūnreaktīvās šūnas – gan retas (0/+), gan maz (+).



2.3. attēls. Neviena (0) *IL-6* imūnreaktīva šūna bronhu epitēlijā (ar sabiezētu bazālo membrānu) un atsevišķas (0/+) *IL-6* imūnreaktīvas šūnas gļotādas saistaudos 68 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-6* IHĶ, ×250

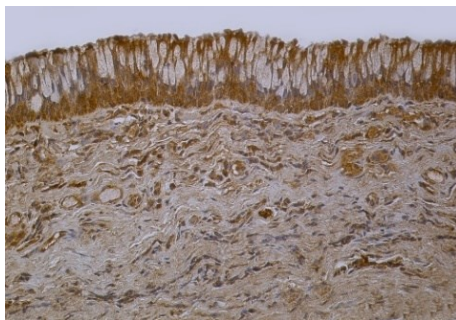
Interleikīns-8 (*IL-8*). Visiem (40) HOPS pacientiem konstatējām variablu *IL-8* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā – no retām (0/+) līdz ļoti daudz (++++), tādām (2.4. attēls). Lielākajai daļai HOPS pacientu noteicām maz

(+) līdz daudz (+++) *IL-8* saturošu šūnu gļotādas saistaudos (31) un asinsvados (36), bet gludajā muskulatūrā (30) – retas (0/+) līdz maz un līdz vidēji daudz (+/+).



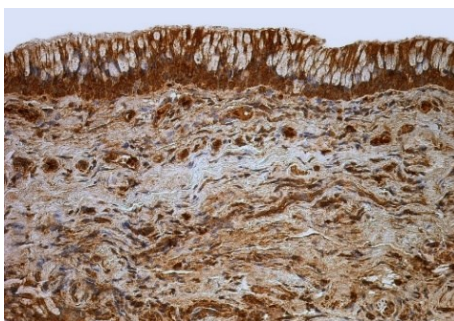
2.4. attēls. Daudz (+++) *IL-8* saturošu šūnu epitēlijā, saistaudos un asinsvados (bultiņa) 61 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-8* IHĶ, $\times 200$

Audzēju nekrozes faktors-alfa (*TNF- α*). Daļai HOPS pacientu noteicām vidēji daudz (++) *TNF- α* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā (11), saistaudos (14) un asinsvados (7), bet pārējiem – retas (0/+) līdz daudz, un līdz ļoti daudz (+++/+++++) *TNF- α* pozitīvu šūnu (2.5. attēls). Vairumam HOPS pacientu noteicām retas (0/+) vai maz (+) *TNF- α* imūnreaktīvas šūnas gludajā muskulatūrā (29) un dziedzeros (23).



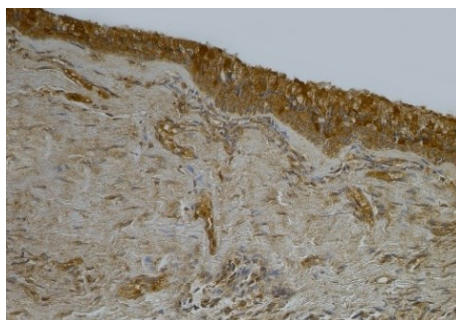
2.5. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/+++++) *TNF- α* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā un gļotādas saistaudos 60 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *TNF- α* IHĶ, $\times 200$

Interleikīns-7 (*IL-7*). Lielākajai daļai (13) HOPS pacientu konstatējām lielākoties daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) *IL-7* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā (2.6. attēls), savukārt saistaudos (22) un asinsvados (18) – vidēji daudz līdz daudz (+/+++ un daudz (+++)). Vairumam HOPS pacientu gludajā muskulatūrā (28) un dziedzeros (16) noteicām maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/+++), vidēji daudz (++) vai vidēji daudz līdz daudz (+/++++) *IL-7* imūnreaktīvo šūnu.



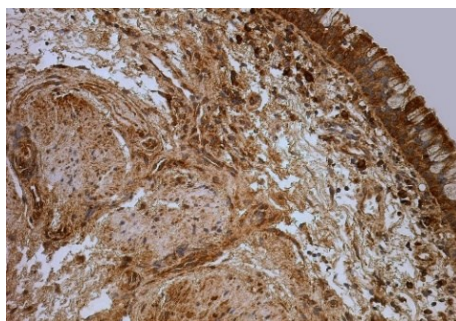
2.6. attēls. **Kopumā daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) *IL-7* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos un asinsvados 61 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-7* IHĶ, ×200**

Interleikīns-12 (*IL-12*). Vairumam HOPS pacientu konstatējām lielākoties vidēji daudz (++) līdz daudz (+++) *IL-12* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā (25), saistaudos (28) un asinsvados (29) (2.7. attēls), bet gludajā muskulatūrā (20) un dziedzeros (16) – maz (+) *IL-12* faktoru saturošu šūnu.



2.7. attēls. Daudz (+++) *IL-12* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā, vidēji daudz (++) tādu glotādas saistaudos un asinsvados 60 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-12* IHĶ, ×200

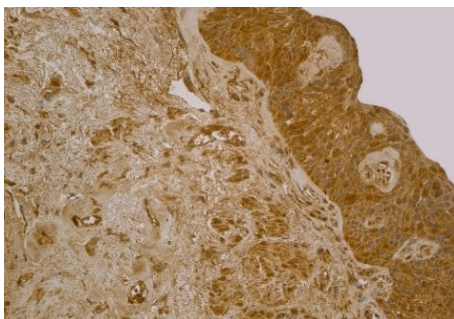
Interleikīns-10 (*IL-10*). Lielākajai daļai HOPS pacientu konstatējām daudz (+++) līdz ļoti daudz (+++++) *IL-10* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā (24), bet saistaudos (22) un asinsvados (17) – vidēji daudz līdz daudz (++) un daudz (+++) (2.8. attēls). Visiem HOPS pacientiem noteicām variablu *IL-10* imūnreaktīvo šūnu skaitu gludajā muskulatūrā un dziedzeros – to nebija (0) vai bija pat ļoti daudz (++++).



2.8. attēls. Ļoti daudz (+++++) *IL-10* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā un saistaudos, daudz (+++) imūnreaktīvo šūnu asinsvados un gludajā muskulatūrā 60 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *IL-10* IHĶ, ×200

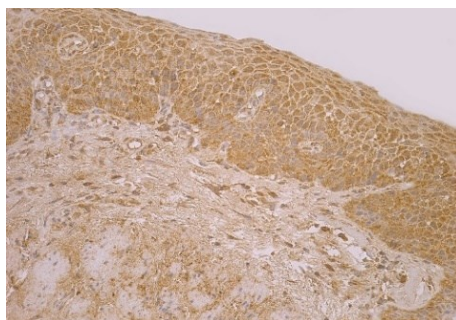
Plaušu audu remodelācijā nozīmīgi faktori

Transformējošais augšanas faktors- $\beta 1$ ($TGF-\beta 1$). Visiem HOPS pacientiem noteicām izteikti dažādu $TGF-\beta 1$ imūnreaktīvo šūnu atradi – līdz pat ļoti daudz (+++++) $TGF-\beta 1$ saturošām šūnām bronhu epitēlijā, saistaudos un asinsvados (2.9. attēls). Lielākajai daļai HOPS pacientu bronhu gludajā muskulatūrā (35) un dziedzeros (29) vai nu nenoteicām nevienu (0) $TGF-\beta 1$ imūnreaktīvo šūnu, vai arī noteicām tādas līdz pat vidēji daudz (++).



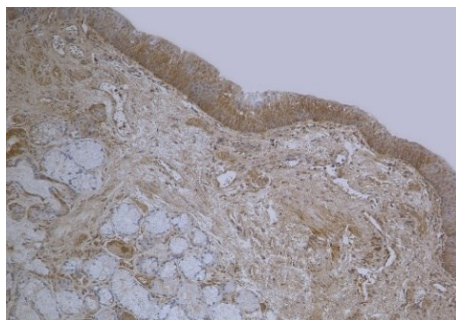
2.9. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/+++++) $TGF-\beta 1$ imūnreaktīvo šūnu metaplāzijas pārmainītā bronhu epitēlijā un gļotādas saistaudos 61 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). $TGF-\beta 1$ IHĶ, $\times 200$

Matrices metaloproteināze-2 ($MMP-2$). Visiem HOPS pacientiem konstatējām izteikti variablu – līdz ļoti daudz (+++++) – $MMP-2$ imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā (2.10. attēls), bet saistaudos un asinsvados to daudzums variēja – no nevienas (0) līdz daudz (+++). Lielākajai daļai HOPS pacientu bronhu gludajā muskulatūrā (30) un dziedzeros (22) vai nu nenoteicām nevienu (0) $MMP-2$ imūnreaktīvo šūnu, vai tās bija retas (0/+) vai maz (+).



2.10. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu metaplāzijas pārmainītā bronhu epitēlijā un gļotādas saistaudos, kā arī maz līdz vidēji daudz (+/++) tādu šūnu gļotādas asinsvados un bronhu gludajā muskulatūrā 64 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *MMP-2* IHĶ, ×200

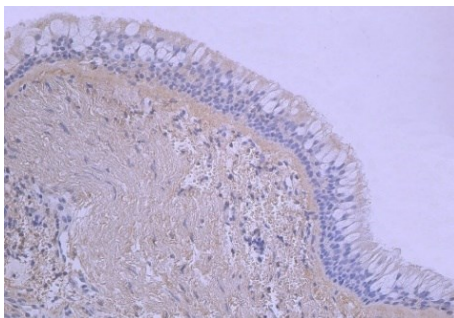
Matrices metaloproteināzes-2 audu inhibitors (*TIMP-2*). Vairumam (22) HOPS pacientu konstatējām lielākoties daudz (+++) vai daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā (2.11. attēls), bet gludajā muskulatūrā (17) un dziedzeros (14) – retas (0/+) vai maz (+). Visiem HOPS pacientiem saistaudos un asinsvados noteicām izteikti variablu *TIMP-2* saturošu šūnu skaitu – no nevienas (0) līdz ļoti daudz (++++).



2.11. attēls. Daudz (+++) *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā, kā arī vidēji daudz (++) tādu šūnu gļotādas asinsvados un bronhu dziedzeros 68 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *TIMP-2* IHĶ, ×100

Šūnu un audu oksidatīvā stresa faktori

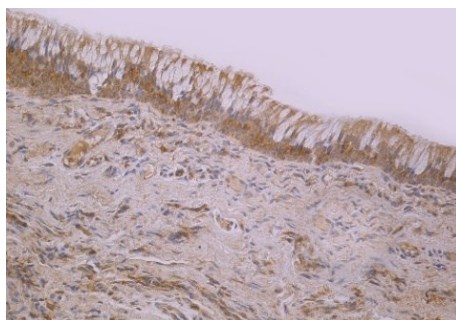
Karstuma šoka proteīns-70 (*Hsp-70*). Vairumam HOPS pacientu lielākoties nebija nevienas (0) vai bija retas (0/+) *Hsp-70* imūnreaktīvas šūnas bronhu epitēlijā (39), saistaudos (37), asinsvados (39), gludajā muskulatūrā (36) un dziedzeros (32) (2.12. attēls).



2.12. attēls. Retas (0/+) perēklveidīgi izvietotas un vāji pozitīvas *Hsp-70* imūnreaktīvas šūnas bronhu epitēlijā, bet neviena (0) tāda gļotādas saistaudos un asinsvados 60 gadus veca vīrieša plaušu audos (HOPS). *Hsp-70* IHĶ, ×200

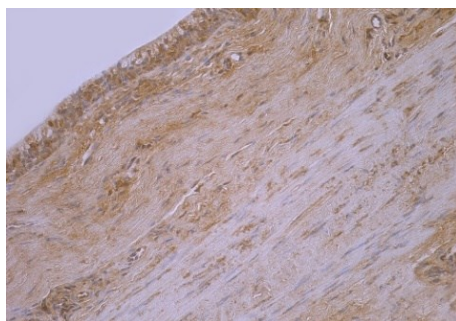
Audu antimikrobās aizsardzības faktori

Cilvēka beta defensīns-2 (*hBD-2*). Visiem HOPS pacientiem konstatējām variablu *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu daudzumu bronhu epitēlijā, saistaudos un asinsvados – no nevienas (0) līdz daudz un līdz ļoti daudz (+++/+++++) (2.13. attēls). Vairumam HOPS pacientu nenoteicām (0) vai noteicām retas (0/+), maz (+), maz līdz vidēji daudz (+/++) *hBD-2* imūnreaktīvas šūnas gludajā muskulatūrā (37) un dziedzeros (27).



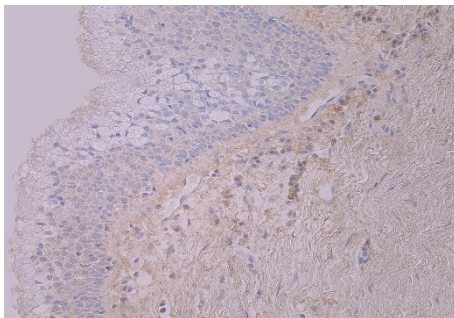
2.13. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++) *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā un gļotādas saistaudos 78 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *hBD-2* IHĶ, ×200

Cilvēka beta defensīns-3 (*hBD-3*). Lielākajai daļai HOPS pacientu konstatējām no retām (0/+) līdz vidēji daudz (++) *hBD-3* imūnreaktīvām šūnām bronhu epitēlijā (24), saistaudos (30), un asinsvados (31) (2.14. attēls), bet gludajā muskulatūrā (33) un dziedzeros (24) – vai nu neatradām nevienu (0), vai tādas bija retas (0/+) un maz (+).



2.14. attēls. Vidēji daudz (++) *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos, asinsvados un gludajā muskulatūrā 61 gadus veca vīrieša plaušu audu materiālā (HOPS). *hBD-3* IHĶ, ×200

Cilvēka beta defensīns-4 (*hBD-4*). Būtiski lielākajai daļai HOPS pacientu nekonstatējām nevienu (0) vai noteicām retas (0/+) un maz (+) *hBD-4* imūnreaktīvas šūnas bronhu epitēlijā (38), saistaudos (38), asinsvados (39), gludajā muskulatūrā (39) un dziedzeros (33) (2.15. attēls).



2.15. attēls. Neviena (0) *hBD-4* imūnreaktīva šūna bronhu epitēlijā un asinsvados, bet maz (+) šādu šūnu gļotādas saistaudos 61 gadus veca vīrieša plaušu audos (HOPS). *hBD-4* IHĶ, ×400

Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes relatīvais daudzums HOPS pacientiem

Kopumā HOPS pacientu audu materiālā vismazāko imūnreaktīvo šūnu skaitu noteicām bronhu gludajā muskulatūrā un bronhu dziedzeros. No šīs atradnes jāizceļ statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) mazāks *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-12*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu gludajā muskulatūrā.

Kopumā visvairāk imūnreaktīvo šūnu HOPS pacientu audu materiālā noteicām bronhu epitēlijā, saistaudos un asinsvados. Atsevišķi no šīs atradnes jāizceļ statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) lielāks *IL-1α*, *IL-4*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *MMP-2* un *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā (2.2. tabula).

Dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes savstarpējā saistība HOPS pacientiem

Kopumā jāmin statistiski nozīmīga ($p < 0,05$) savstarpējā saistība starp ***IL-1 α* , *IL-4*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *TNF- α* , *MMP-2*, *TIMP-2*, *TGF- β 1*, *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4*** imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā, saistaudos, asinsvados, gludajā muskulatūrā un bronhu dziedzeros, kā arī statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) izteikta savstarpējā saistība starp ***IL-8*, *IL-7*, *IL-10***, kā arī ***MMP-2*, *TIMP-2*, *TGF- β 1*** imūnreaktīvo šūnu skaitu dažādās bronhu sienas lokalizācijās.

**Relatīvais dažādu audu faktoru daudzums dažādās lokalizācijās
HOPS pacientu (N = 40) plaušu audos**

	<i>E.</i>	<i>Sa.</i>	<i>A.v.</i>	<i>G.m.</i>	<i>Dz.</i>
<i>IL-1α</i>	++/+++ *	+/++	+	0/+	+
<i>IL-4</i>	+++ *	+/++ – ++	+/++	+	+/++
<i>IL-6</i>	+/++ – ++	0/+	+	0/+	0/+
<i>IL-8</i>	+++ *	++	++	+	+/++
<i>TNF-α</i>	++	++	++	+	+
<i>IL-7</i>	+++ /++++ *	++ /+++	++ /+++	+/++ *	++
<i>IL-12</i>	++ /+++	++ /+++	++	+	+
<i>IL-10</i>	+++ *	++ /+++	++ /+++	+/++ *	+/++
<i>TGF-β1</i>	++ /+++	++ /+++	++ – ++ /+++	+/++	+
<i>MMP-2</i>	++ /+++ *	++	+/++	0/+	+
<i>TIMP-2</i>	+++ *	+/++ – ++	+/++	+	+
<i>Hsp-70</i>	0	0	0	0	0
<i>hBD-2</i>	+/++	++	+/++ – ++	+	+
<i>hBD-3</i>	++	++	+/++	0/+ *	+
<i>hBD-4</i>	0/+	0/+	0/+	0 *	0

Saīsinājumi: *E.* – bronhu epitēlijs; *Sa.* – gļotādas saistaudi; *A.v.* – gļotādas asinsvadu sienušs; *G.m.* – gludā muskulatūra; *Dz.* – bronhu dziedzeri; *IL-1α*, -4, -6, -7, -8, -10, -12 – interleikīns-1 alfa, -4, -6, -7, -8, -10, -12; *TNF-α* – audzēju nekrozes faktors-α; *TGF-β1* – transformējošais augšanas faktors-β1; *MMP-2* – matricas metaloproteināze-2; *TIMP-2* – *MMP-2* audu inhibitors; *Hsp-70* – karstuma šoka proteīns-70; *hBD-2*, -3, -4 – cilvēka beta defensīns-2, -3, -4.

Apzīmējumi: 0 – redzes laukā (r.l.) neatrod imūnreaktīvas (i.r.) šūnas (0); 0/+ – r.l. ir retas i.r. šūnas (0,5); + – r.l. maz i.r. šūnu (1,0); ++ – r.l. maz līdz vidēji daudz i.r. šūnu (1,5); ++ – r.l. vidēji daudz i.r. šūnu (2,0); ++/+++ – r.l. vidēji daudz līdz daudz i.r. šūnu (2,5); +++ – r.l. daudz i.r. šūnu (3,0); +++/+++ – r.l. daudz līdz ļoti daudz i.r. šūnu (3,5).

N – pacientu skaits.

* – statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0,05$), salīdzinot ar pārējām lokalizācijām.

Bronhoskopiskās izmeklēšanas datu un dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes savstarpējā saistība HOPS pacientiem

HOPS pacientiem bronhoskopiski konstatēta hipertrofija bija saistīta ar lielāku *IL-8* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā ($U = 197,5, p = 0,037$) un dziedzeros ($U = 122, p = 0,041$), mazāku *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu skaitu saistaudos ($U = 74,5, p = 0,026$) un asinsvados ($U = 76,5, p = 0,031$), kā arī mazāku *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā ($U = 73,5, p = 0,023$) un asinsvados ($U = 70, p = 0,017$). Savukārt hronisks endobronhīts bija saistīts ar mazāku *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā ($U = 79,5, p = 0,014$).

Rutīnas histoloģiskās izmeklēšanas un dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes savstarpējā saistība HOPS pacientiem

HOPS pacientiem bronhu epitēlija metaplāzijas atradne bija saistīta ar lielāku *IL-6* imūnreaktīvo šūnu skaitu saistaudos ($U = 273,5, p = 0,044$) un mazāku *IL-8* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā ($U = 122,5, p = 0,036$). Savukārt fibrozes atradne HOPS pacientiem bija saistīta ar lielāku *TNF- α* imūnreaktīvo šūnu skaitu asinsvados ($U = 164, p = 0,017$) un lielāku *MMP-2* saturošu šūnu skaitu saistaudos ($U = 163,5, p = 0,017$) un asinsvados ($U = 168, p = 0,01$). Vēl HOPS pacientiem asinsvadu sienīgas fibrozes atradne bija saistīta ar lielāku *IL-1 α* ($U = 280, p = 0,014$) un *MMP-2* ($U = 282,5, p = 0,011$) imūnreaktīvo šūnu skaitu saistaudos, kā arī lielāku *IL-10* ($U = 277, p = 0,018$), *MMP-2* ($U = 292, p = 0,005$), *hBD-3* ($U = 283, p = 0,011$), kā arī *hBD-4* ($U = 272, p = 0,027$) imūnreaktīvo šūnu skaitu asinsvados. Savukārt granulācijas audu atradne HOPS pacientiem bija saistīta ar mazāku *IL-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu epitēlijā ($U = 87,5, p = 0,016$), kā arī mazāku *IL-12* ($U = 99,5, p = 0,042$) un *hBD-2* ($U = 91,5, p = 0,022$) imūnreaktīvo šūnu skaitu gļotādas asinsvados.

2.3. Kontroles grupas un HOPS pacientu dažādus audu faktorus saturošu šūnu relatīvā daudzuma savstarpējais salīdzinājums

Kopumā plaušu audu imūnreaktīvo šūnu skaita relatīvā daudzuma salīdzinājums HOPS un kontroles grupas pacientiem norādīja uz statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) lielāku *IL-1α*, *IL-4*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-10*, *TGF-β1*, *TIMP-2* un *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu skaitu un mazāku *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu skaitu HOPS pacientu audu materiālā bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos, asinsvados, bronhu gludajā muskulatūrā un dziedzeros. Noteicām arī statistiski nozīmīgi ($p < 0,05$) lielāku *IL-6*, *IL-8*, *MMP-2* un *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu skaitu, bet mazāku *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu HOPS pacientu audu materiālā atsevišķās lokalizācijās; tāpat arī noteicām lielāku *IL-12* imūnreaktīvo šūnu skaitu epitēlijā, saistaudos un asinsvados, bet mazāku – gludajā muskulatūrā un dziedzeros. Kopumā HOPS un kontroles pacientiem noteicām līdzīgu *IL-6*, *IL-8*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu atsevišķās lokalizācijās.

2.4. Dažādu audu faktoru analīze ontogēnēzes aspektā

2.4.1. Dažādi audu faktori kontroles grupai ontogēnēzes aspektā

- Visu pacientu audos *IL-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā un asinsvados, *IL-6* saturošu šūnu skaits bronhu epitēlijā, kā arī *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits skrimslī palielinās, bet *hBD-4* saturošu šūnu skaits bronhu epitēlijā, saistaudos, kā arī *IL-6* imūnreaktīvo alveolāro makrofāgu skaits samazinās, palielinoties indivīda vecumam;
- 9–49 gadus vecu indivīdu audos *IL-8*, *IL-7*, *IL-10*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, *hBD-3* saturošu šūnu skaits saistaudos, *IL-8* un *IL-12* saturošu šūnu skaits asinsvados, *IL-10* imūnreaktīvo šūnu skaits gludajā muskulatūrā, *IL-7*, *Hsp-70*, *hBD-3* saturošu šūnu skaits skrimslī, *IL-12* un *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu skaits alveolārajā epitēlijā samazinās, palielinoties

indivīda vecumam; savukārt *TNF-α* saturošu šūnu skaits gludajā muskulatūrā, *IL-6* imūnreaktīvo alveolāro makrofāgu skaits, kā arī *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits skrimslī novecojot palielinās;

- 50 un vairāk gadus vecu indivīdu audos *IL-1α* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, *TGF-β1*, *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu skaits saistaudos, *TGF-β1*, *Hsp-70*, *hBD-2*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits asinsvados, *TIMP-2*, *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu skaits gludajā muskulatūrā, *IL-12* imūnreaktīvo šūnu skaits dziedzeros, *TNF-α* imūnreaktīvo alveolāro makrofāgu kopā novecojot samazinās; savukārt *IL-4* un *IL-6* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā un *IL-4* imūnreaktīvo šūnu skaits asinsvados novecojot palielinās.

2.4.2. Dažādi audu faktori HOPS pacientiem ontogēnēzes aspektā

HOPS pacientu anamnēzes dati

Kopumā 75 un vairāk gadus vecu indivīdu FEV_1 (%), FEV_1 (L) un FEV_1/FVC vidēji bija zemāki, salīdzinot ar jaunākiem HOPS pacientiem.

Funkcionālo rādītāju un dažādu audu faktoru imūnhistoķīmiskās atradnes savstarpējā saistība HOPS pacientiem

Kopumā visu HOPS pacientu audos noteikto dažādo audu faktoru imūnhistoķīmiskā atradne nebija statistiski nozīmīgi ($p \geq 0,05$) saistīta ar HOPS ilgumu, smaguma pakāpi, smēķēšanas anamnēzi, kā arī funkcionālajiem rādītājiem (FEV_1 (L), FEV_1 (%), FVC (L), FVC (%), FEV_1/FVC).

Bronhoskopiskās izmeklēšanas atradne HOPS pacientiem ontogēzes aspektā

Bronhoskopiski noteikta hroniska bronhīta atradne visbiežāk tika noteikta 65–74 gadus (8), kā arī 75 un vairāk gadus (6) vecu indivīdu bronhos, bet netika noteikta 50–64 gadus vecu indivīdu bronhos. Turklāt HOPS pacienti, kuriem bronhoskopiski bija noteikts hronisks bronhīts, bija statistiski nozīmīgi vecāki ($U = 92, p = 0,045$).

Rutīnas histoloģiskās izmeklēšanas atradne HOPS pacientiem ontogēzes aspektā

HOPS pacientiem tika atrasta statistiski nozīmīga atšķirība starp indivīdu vecumu un epitēlija metaplāzijas atradni ($U = 115, p = 0,022$), proti, pacienti ar epitēlija metaplāzijas atradni bija statistiski nozīmīgi vecāki. Tāpat HOPS pacienti arī ar granulācijas audu atradni biežāk bija statistiski nozīmīgi vecāki ($U = 236, p = 0,045$).

Imūnhistoķīmiskā atradne HOPS pacientiem ontogēzes aspektā

- Visu HOPS pacientu audu materiālā **IL-6** imūnreaktīvo šūnu skaits gļotādas saistaudos palielinās, bet **IL-8** saturošu šūnu skaits bronhu epitēlijā, asinsvados, gludajā muskulatūrā, dziedzeros, kā arī **IL-7** saturošu šūnu skaits asinsvados novecojot samazinās;
- 50–64 gadus vecu HOPS pacientu audu materiālā **hBD-4** imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā un **IL-6** saturošu šūnu skaits bronhu dziedzeros novecojot palielinās;
- 50–64 gadus, kā arī 65–74 gadus vecu HOPS pacientu audu materiālā **hBD-2**, **Hsp-70** saturošu šūnu skaits bronhu epitēlijā, **IL-7**, **IL-8**, **Hsp-70**, **hBD-2** saturošu šūnu skaits gļotādas saistaudos, **IL-7**, **IL-8**, **hBD-2**, **hBD-3** imūnreaktīvo šūnu skaits asinsvados, **IL-8**, **TIMP-2** saturošu šūnu skaits gludajā muskulatūrā novecojot samazinās;

- 65–74 gadus vecu HOPS pacientu audu materiālā ***IL-4*** imūnreaktīvo šūnu skaits palielinās, bet ***TNF-α*** saturošu šūnu skaits gludajā muskulatūrā novecojot samazinās;
- 65–74 gadus, kā arī 75 un vairāk gadus vecu HOPS pacientu audu materiālā ***IL-4***, ***IL-6*** imūnreaktīvo šūnu skaits gļotādas saistaudos, ***IL-1α*** saturošu šūnu skaits gļotādas asinsvados, ***IL-1α***, ***IL-4***, ***IL-6***, ***IL-12***, ***hBD-4*** saturošu šūnu skaits gludajā muskulatūrā, ***IL-6*** imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu dziedzeros novecojot palielinās;
- 75 un vairāk gadus vecu HOPS pacientu audu materiālā ***IL-1α*** imūnreaktīvo šūnu skaits gludajā muskulatūrā, ***IL-4*** saturošu šūnu skaits bronhu epitēlijā, ***MMP-2*** saturošu šūnu skaits gļotādas asinsvados, ***IL-6***, ***IL-10*** imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu dziedzeros palielinās, bet ***IL-8*** imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, ***IL-7***, ***TGF-β1*** imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu dziedzeros novecojot samazinās.

3. DISKUSIJA

3.1. HOPS skartu plaušu audu rutīnās histoloģiskās izmeklēšanas atradne

Rutīnās histoloģiskās izmeklēšanas atradnē HOPS pacientiem konstatējām būtiskas audu pārmaiņas epitēlijā, bazālajā membrānā, saistaudos, dziedzeros, gludajā muskulatūrā, kā arī asinsvados. Neskatoties uz katras struktūras specifisko funkciju, visas šīs pārmaiņas vērtējamas kā nespecifiskas un atsevišķi analizētas daudzu autoru darbos.

Lai gan arī epitēlija metaplāzija ir atgriezeniska (Herfs et al., 2012), mūsu pētījumā epitēlija metaplāzijas atradne bija statistiski nozīmīgi saistīta ar sliktākiem un/vai variablākiem funkcionālajiem rādītājiem, kā arī HOPS smaguma pakāpi. Tas sakrīt ar *Rigden et al.* (2016) pētījumu, kur noskaidrots, ka HOPS pacientu bronhu biopsijās epitēlija metaplāzija ir saistīta ar sliktākiem funkcionālajiem rādītājiem un HOPS smaguma pakāpi (Rigden et al., 2016). Attiecīgi bronhu epitēlija metaplāzijas atradne rutīnas histoloģiskajos izmeklējumos ir saistāma gan ar sliktāku HOPS norisi, gan ar nelabvēlīgāku prognozi.

Vairumam HOPS pacientu gļotādas saistaudos konstatējām fibrotiskas pārmaiņas ar lielu daudzumu, blīvi novietotu saistaudu kolagēno šķiedru kūlīšu atradni, starp kuriem vizualizējām retas saistaudu šūnas. Daļā HOPS pacientu audu kolagēno šķiedru kūlīši bija izvietoti haotiski un neregulāri. Fibrotiskas pārmaiņas audos ir saistītas ar hronisku iekaisumu, kur galvenā loma ir imūno (t.sk. *CD4+ Th*, *CD8+ T*, polimorfonukleāro šūnu, B limfocītu) šūnu un bronhu epitēlija šūnu producētiem audu faktoriem un to savstarpējai mijiedarbībai (Hogg, 2004; Yanagisawa et al., 2017). Fibrotiskie procesi ir viens no galvenajiem faktoriem, kādēļ HOPS gadījumā veidojas progresējoša elpceļu obstrukcija (Chung, 2005). Tas norāda uz progresējošiem remodelācijas procesiem, ko veicina HOPS smaguma pasliktināšanās (Hogg et al., 2004). Šie

dati atbilst mūsu pētījumā noteiktajai statistiski nozīmīgai saistībai starp fibrotisku pārmaiņu atradni un funkcionālajiem rādītājiem (FEV_1 (L), FEV_1 (%), FVC (L)), proti, fibrozes atradne bija saistīta ar sliktākiem funkcionālajiem rādītājiem. Visticamāk, ka pacientiem ar fibrozi elpceļos ir progresējoša lielāka elpceļu obstrukcija, tomēr progresējošu obstrukciju HOPS gadījumā ierosina ne tikai fibroze, bet arī epitēlija metaplāzija, mukoīds epitēlijs, gludās muskulatūras hiperplāzija, bronhu dziedzeru hipertrofija, kā arī iekaisuma šūnu infiltrācijas rezultātā radies audu apjoma pieaugums (Chung, 2005).

Visu HOPS pacientu bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos un bronhu dziedzeros vai ap tiem atradām iekaisuma šūnu infiltrāciju. Hroniska iekaisuma veidošanās un iekaisuma šūnu (galvenokārt makrofāgu, neitrofilo leukocītu, limfocītu, eozinofilo leukocītu) daudzuma palielināšanās lokāli bronhu sienā ir klasiska HOPS pazīme (Barnes, 2014). HOPS gadījumā hronisku iekaisumu raksturo izteikta imūno šūnu aktivācija un infiltrācija audos, kur vienlaicīgi mijiedarbojas neskaitāmas signālmolekulas, ko izdala gan imūnās, gan neimūnās šūnas (Taylor, 2010; Barnes, 2014). HOPS pacientu bronhu biopsijas materiālā saistaudos tipiski atrod palielinātu neitrofilo un eozinofilo leukocītu, makrofāgu, T un B limfocītu, $CD4+$ un $CD8+$ T limfocītu daudzumu (Hogg et al., 2004; Barnes et al., 2006; Yoshida & Tudor, 2007; Brozyna et al., 2009). Neitrofilie leukocīti ir vienas no galvenajām iekaisuma šūnām HOPS patoģenēzē, turklāt tie ir cieši saistīti ar HOPS smaguma pakāpi un nelabvēlīgāku slimības norisi (Singh et al., 2010). Tāpat arī jāmin makrofāgu (Barnes, 2004a), dendrītisko šūnu (Givi et al., 2012), tuklo šūnu (Mortaz et al., 2011), kā arī plazmocītu (Zhu et al., 2007) klātbūtne hroniska iekaisuma norisē HOPS gadījumā. Kopumā imūnās šūnas ietekmē elpceļu destrukciju un remodelēšanu, tieši izdalot enzīmus un iekaisuma citokīnus vai netieši regulējot citu šūnu funkcijas. Dažādi imūno šūnu izdalītie faktori var veicināt elpceļu ārpusšūnu matricēs (ECM) destrukciju un remodelācijas procesus, turpretī citi faktori var pasargāt no audu bojājumiem un

veicināt atjaunošanos (Wang et al., 2018). Mūsu pētījumā atradām iekaisuma šūnu infiltrātus bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos un bronhu dziedzeros, kas apstiprina iekaisuma iesaisti HOPS morfoloģenēzē. Iekaisuma šūnu infiltrācija mūsu pacientu bronhu epitēlijā, gļotādas saistaudos un bronhu dziedzeros variēja no neizteiktas līdz ļoti izteiktai, tomēr kopumā tā bija vairāk izteikta gļotādas saistaudos. Iekaisuma šūnu pārsvars saistaudos saistāms ar iekaisuma šūnu migrāciju no mikrocirkulācijas asinsvadiem tuvākajos saistaudos netālu no asinsvada endotēlija bazālās membrānas, kā arī tālāk uz citām vietām bronhu sienā, piemēram, epitēliju un tā virsmu (Rennard et al., 2007). Lai arī neveicām molekulāru imūno šūnu identifikāciju, izmantojot imūno šūnu specifiskus marķierus, jādoma, ka dažādu audu faktoru atradne, kura aprakstīta tālāk diskusijā, sniedz pietiekamu pamatojumu minēto imūno šūnu atradnei, tomēr šis virziens būtu novators tālākajos pētījumos nākotnē.

Visiem mūsu HOPS pacientiem tika atrastas statistiski nozīmīgas atšķirības starp bronhoskopiski noteiktu hipertrofiju un iekaisuma šūnu infiltrācijas pakāpi bronhu gļotādas saistaudos, kur pretēji gaidītajam noteicām, ka hipertrofijas atradne bija saistīta ar mazāku iekaisuma šūnu infiltrācijas pakāpi gļotādas saistaudos, bet ne ar HOPS pacientu anamnēzes datiem un funkcionālajiem rādītājiem. Tā kā bronhu sienas sabiezēšanu un tālāku bronhu obstrukciju ierosina arī citas lokālās pārmaiņas (Chung, 2005), jādoma, ka iekaisuma šūnu infiltrācijas rezultātā radies audu apjoma pieaugums nav tik izteikts, lai vienatnē radītu obstrukciju un atbilstošu spirogrāfisko atradni, tas ir, obstrukcija veidojas, vienlaicīgi kombinējoties vairākām morfoloģiskām pārmaiņām kopā.

Lielākajai daļai HOPS pacientu gļotādas saistaudos noteicām iekaisuma šūnu infiltrāciju kopā ar granulācijas audiem, turklāt granulācijas audu atradne bija statistiski nozīmīgi saistīta ar izteiktāku iekaisuma šūnu infiltrāciju gļotādas saistaudos, kā arī ar ilgāku smēķēšanu (p/g). Granulācijas audu veidošanās

HOPS gadījumā ir saistīta ar saistaudu un vaskularizācijas remodelācijas pārmaiņām pēc audu bojājuma kairinātāja ietekmē. Vaskularizācijas pārmaiņas (kā angiogēnēze) un fibrozes veidošanās (kā *ECM* elementu uzkrāšanās) veicina sākotnēji izveidoto granulācijas audu pārbūvi un rētaudu veidošanos (Rennard et al., 2007), tādēļ granulācijas audu atradne liecina par procesu hronisku norisi.

Jādomā, ka epitēlija metaplāzija un fibroze ir identificējamās kā būtiskākās lokālās pārmaiņas ar tiešu ietekmi uz klīnisko HOPS atradni, elpceļu obstrukcijas izpausmēm un nelabvēlīgāku HOPS prognozi, turpretī mukoīds epitēlijs, bazālās membrānas sabiezēšana, bronhu dziedzeru hipertrofija, gludās muskulatūras hiperplāzija varētu būt saistītas ar adaptīvām un kompensatorām lokālām pārmaiņām, regulācijas funkciju, kā arī HOPS norises un lokālo pārmaiņu variabilitāti.

3.2. Dažādu audu faktori relatīvi veselos plaušu audos

Kontroles grupas plaušu audos mēs atradām kopumā mazu visu pētāmo faktoru – *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-10*, *TGF-β1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *Hsp-70*, *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4* – imūnreaktīvo šūnu skaitu dažādās lokalizācijās. Kontroles grupas bronhu epitēlijā, bronhu skrimšļos, alveolārajā epitēlijā un starp alveolārajiem makrofāgiem mēs atradām vislielāko imūnreaktīvo šūnu skaitu. Atsevišķi no šīs atradnes jāizceļ statistiski nozīmīgi lielāks *IL-4*, *IL-7* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, lielāks *IL-8*, *TNF-α* un *TGF-β1* imūnreaktīvo šūnu skaits alveolāro makrofāgu kopā, *IL-8* imūnreaktīvo šūnu skaits gļotādas asinsvados un *TNF-α* imūnreaktīvo šūnu skaits gļotādas saistaudos, salīdzinot ar šī paša faktora atradni citās lokalizācijās.

Tāpat kontroles grupas pacientu audu materiālā noteicām vismazāko imūnreaktīvo šūnu skaitu gļotādas saistaudos, asinsvados, bronhu gludajā muskulatūrā, dziedzeros. Piekrītam, ka šāda atradne skaidrojama ar dažādu

faktoru pamata jeb “bāzes” līmeni relatīvas normas gadījumā un potenciālu mainību dažādu slimību gadījumā (Rohmann et al., 2011).

Jāuzsver, ka dažādas šūnas plaušu audos un to saistība ar citām veido un regulē dažādus signālceļus vietējās imunitātes veidošanai relatīvā veselības stāvoklī (Vareille et al., 2011). Imunitātes koncepcija jau sen ir pārskatīta, ņemot vērā iespējamo neimūno šūnu spēju izdalīt un reaģēt uz tādām signālmolekulām, kas ir “tipiskas” imūno reakciju norisē, tādējādi tiešā veidā piedaloties, piemēram, iekaisuma procesā. Nepārtrauktas kairinātāju un antigēnu iedarbības dēļ epitēlija šūnas var aktivēt lokālās imūnkompetentās šūnas vai ierosināt to hemotaksi uz bojājuma vietu. Epitēlija šūnas izmanto autokrīnu un parakrīnu signālpārnesi, lai nodrošinātu efektīvu starpsūnu komunikāciju un tās regulāciju, t.sk. ar atgriezeniskās saites mehānismu, kas zināmā mērā ataino savdabīgu homeostāzi relatīvas normas apstākļos. Līdzīga funkcija noteikta alveolārajiem makrofāgiem, kas tieši saskaras ar ārvides faktoriem plaušu alveolārajā daļā (Barnes, 2004a; Hallstrand et al., 2014). Interesanti, ka noteicām visu pētāmo faktoru, izņemot *IL-4* un *TNF-α*, izteiktāku imūnreaktīvo šūnu atradni arī bronhu skrimslī, kur statistiski nozīmīgi lielāks bija *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits.

Pētījumu par dažādu faktoru atradni elpceļu hialīnajā skrimslī praktiski nav. Hroniska bronhīta gadījumā, kas ir viena no HOPS izpausmēm (Kim & Criner, 2013), noteikti hondrolītiski procesi, proti, atrasts lielāks enzīmu, kā arī degradācijas produktu daudzums. Tāpat saistaudos blakus hialīnajam skrimslim konstatēts iekaisuma process ar tuklo šūnu un makrofāgu iesaisti, turklāt minētās pārmaiņas nenovēroja kontroles grupas hialīnajā skrimslī (Tetlow et al., 1999). Līdzīgi kā, piemēram, epitēlijā, arī skrimšļaudos relatīvas normas apstākļos dažādu faktoru atradne varētu norādīt uz dažādu signālmolekulu līdzsvarotu “bāzes” līmeni, skrimšļa plastiskumu un potenciālu piedalīties dažādu audu pārmaiņu procesos arī HOPS gadījumā, tomēr precīzu skaidrojumu par dažu

faktoru mērenu, bet citu salīdzinoši izteiktāku atradni skrimšļos vēl nevaram sniegt.

Imūnreaktīvo šūnu atradne vai pat to trūkums dažādās lokalizācijās varētu būt skaidrojams ar šo struktūru mazāku iesaisti lokālajā signālpārnēsē un maznozīmīgumu starpšūnu komunikācijā relatīvas normas apstākļos.

3.3. Citokīni HOPS skartu plaušu audos

Kopumā HOPS pacientu audu materiālā visvairāk imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu epitēlijā, saistaudos un asinsvados. No visiem pētītajiem audu faktoriem *IL-1α*, *IL-4*, *IL-8*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-10*, *TGF-β1*, *MMP-2* un *TIMP-2* atradne bija starp visizteiktākajām bronhu epitēlijā, *IL-8*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-10*, *TGF-β1*, *MMP-2*, *hBD-2* un *hBD-3* – gļotādas saistaudos, savukārt *IL-8*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-10*, *TGF-β1* – asinsvados, salīdzinot ar to pašu faktoru atradni citās lokalizācijās. Atsevišķi no šīs atradnes jāizceļ statistiski nozīmīgi lielāks *IL-1α*, *IL-4*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *MMP-2* un *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā. Savukārt vismazāko imūnreaktīvo šūnu skaitu noteicām bronhu gludajā muskulatūrā un bronhu dziedzeros HOPS pacientu audu materiālā, turklāt statistiski nozīmīgi mazāk *IL-7*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-12*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu bronhu gludajā muskulatūrā.

Pirms apspriest katra citokīna nozīmi HOPS morfopatogēnēzē, svarīgi ir uzsvērt kopīgo citokīnu nozīmi. Piemēram, iekaisuma citokīnus (piemēram, *IL-8* un *TNF-α*) izteikti izdala gan imūnās, gan bronhu sienas audu šūnas (piemēram, neitrofīlie leukocīti, audu makrofāgi, bronhu epitēlija šūnas), kas kopā organizē iekaisuma procesus (Barnes, 2004b). Šūnu bojājumu laikā izdalītais karstuma šoka olbaltumvielu *Hsp-70* vēl vairāk stimulē *IL-6* un *IL-8* izdalīšanos, sasaistot šūnu un audu bojājumus ar iekaisuma procesu (Sarir et al., 2008). HOPS patoģenēze ir saistīta ar *IL-1* (*IL-1α*, *IL-1β*) (Hulina-Tomašković et al., 2019), *IL-6*, *IL-8* (Gabryelska et al., 2019), *IL-4*, *IL-7* (Perotin et al., 2014;

Wu et al., 2014; Shibata et al., 2018), *IL-10* (Wei & Sheng Li, 2018), *IL-12* (Castellucci et al., 2015) un *TNF- α* (Zhou et al., 2018) lokālu izdali audos, kas nosaka hronisku un nepārtrauktu iekaisumu HOPS gadījumā (Bai et al., 2019). Viennozīmīgi visi lokāli audos izdalītie faktori ietekmē HOPS imūno šūnu profilu. Īpaši svarīgi pieminēt neimūno šūnu (piemēram, epitēlija šūnu, fibroblastu) iesaisti starpšūnu komunikāciju tīklos, kā arī molekulāros mehānismus un signālpārneses, kas vēl vairāk ietekmē HOPS morfoloģiskās pārmaiņas. Kopumā tiek uzskatīts, ka HOPS ir saistīts ar dažādiem citokīniem un/vai lielu to skaitu un mijiedarbību, turklāt līdz šim evidenti noteikts lokāli palielināts *IL-1*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- α* daudzums HOPS skartos audos (Caramori et al., 2016; Cho et al., 2019). Pētījumos ir aprakstīta *Th1* iekaisuma citokīnu *IL-1*, *IL-8*, *IL-12* un *TNF- α* , kā arī *Th2* iekaisuma citokīnu *IL-6* un *IL-10* saistība ar HOPS (Baines et al., 2011).

HOPS pacientiem visvairāk ***IL-1 α*** imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu saistaudos un bronhu epitēlijā, turklāt *IL-1 α* atradne epitēlijā bija statistiski nozīmīgi visizteiktākā. HOPS pacientiem dažādās lokalizācijās *IL-1 α* atradne kopumā bija statistiski nozīmīgi saistīta ar *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *MMP-2*, *hBD-2*, kā arī *hBD-3* atradni, īpaši bronhu epitēlijā un dziedzeros. Tā kā *IL-1* saimes faktori (t.sk. *IL-1 α*) ir saistīti ar iedzimtās un iegūtās imunitātes funkcijām, turklāt *IL-1 α* ir viens no galvenajiem iekaisuma citokīniem (Garlanda et al., 2013), *IL-1 α* atradne kontroles audos vērtējama kā neizteikta iekaisuma reakcijas pazīme fizioloģiskas normas apstākļos uz persistējošu saskari ar ārvidi, kas saistīta arī ar citokīnu *IL-4*, *IL-6*, *IL-7* un *IL-10* savstarpējo mijiedarbību. Lai gan zināms, ka *IL-1 α* regulē dažādus ar iekaisuma procesu saistītus citokīnus (t.i., ne tikai iekaisuma citokīnus), atsevišķi citokīni regulē arī *IL-1 α* izdali. Normas apstākļos epitēlijšūnas gan izdala *IL-1 α* , *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, gan saņem šo faktoru ierosinotus signālus (Varelle et al., 2011; Hallstrand et al., 2014). *IL-1 α* prekursors atrodas elpceļu epitēlijā, tādēļ elpceļu epitēlija šūnas tiek pētītas kā

IL-1α citokīna avots (Iwasaki & Medzhitov, 2015). Tiklīdz epitēlijšūnās veidojas *IL-1α*, secīgi pēc tam novēro citu citokīnu produkcijas izdali. Jādomā, ka dažādu citokīnu savstarpējā regulācijā vispirms notiek *IL-1α* izdale, bet tikai pēc tam seko citu faktoru izdale. *IL-1α* ir saistīts ar spēju uzsākt iekaisuma reakciju, kā arī nodrošināt turpmāku iekaisuma uzturēšanu un pastiprināšanu arī HOPS gadījumā, kur bronhu epitēlijs nosaukts kā viena no galvenajām *IL-1α* produkcijas vietām. Tālāka *IL-1α* izdale no vēl citām šūnām var ierosināt citu citokīnu signālpārnesu kaskādi un uzsākt vai uzturēt iekaisuma procesu, t.sk. hronisku iekaisumu ilgstošā laika periodā, ja kairinātāja ietekme netiek eliminēta (Garlanda et al., 2013).

Ir ziņojumi par elpceļu epitēlija šūnu “HOPS fenotipu”, kas saistīts ar epitēlijšūnu spēju pastiprināti atbrīvot dažādus citokīnus vai, pretēji, ierobežot to izdali (Nadigel et al., 2013). Elpceļu epitēlija šūnas aktivizē un tālāk atbrīvo dažādus citokīnus, piemēram, *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8* un *IL-10* (Vareille et al., 2011; Hallstrand et al., 2014). Turklāt epitēlija šūnas ir spējīgas ražot iekaisuma, pretiekaisuma un regulējošos mediatorus – *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, reaģējot uz dažādiem stimuliem (Barnes, 2018; Zeng et al., 2018). Šī atradne liek mums domāt, ka *IL-1α* ir uzskatāms par vienu no agrīnākajiem iekaisuma mediatoriem HOPS gadījumā un tādējādi saistāms ar kompleksu iekaisuma procesa uzsākšanu, uzturēšanu un pastiprināšanu HOPS gadījumā ar visvairāk izceltu elpceļu epitēlija lomu šajās norisēs. HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi lielāku *IL-1α* imūnreaktīvo šūnu atradni gļotādas saistaudos saistībā ar sabiezētu mikrocirkulācijas asinsvadu sienu. Tas daļēji sakrīt ar citu pētnieku konstatēto, proti, ka *IL-1α* ir saistīts ar fibrozes veidošanos secīgi pēc akūta iekaisuma (Borthwick, 2016).

Kopumā HOPS pacientiem viennozīmīgi visvairāk *IL-4* imūnreaktīvo šūnu noteicām šūnu bronhu epitēlijā, turklāt *IL-4* atradne epitēlijā bija statistiski nozīmīgi visizteiktākā. HOPS pacientiem dažādās lokalizācijās *IL-4* atradne

kopumā bija statistiski nozīmīgi saistīta ar *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *TNF-α*, *TGF-β1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2*, kā arī *hBD-3* atradni dažādās lokalizācijās, īpaši bronhu epitēlijā un dziedzeros. Tā kā šī atradne *IL-4* un *IL-1α* bija līdzīga, pieņemam, ka *IL-4* veic virkni svarīgu funkciju HOPS gadījumā. Piemēram, *IL-4* ietekmē palielinās fibroblastu proliferācija un *ECM* komponentu produkcija, kas veicina fibrozes veidošanos (Luzina et al., 2015). *IL-4* signālpārnese ir saistīta ar HOPS patogēnēzi, kuras norisē lielam daudzumam imūno šūnu novēro *IL-4* produkcijas aktivitāti. *IL-4* galvenie produkcijas avoti ir *Th2* šūnas, tuklās šūnas, bazofilie leukocīti, kā arī eozinofilie leukocīti, bet galvenās funkcijas saistītas ar eozinofilo leukocītu pastiprinātu veidošanos, *Th2* limfocītu skaita palielināšanos, bet *Th1* limfocītu skaita samazināšanos, *IgE* produkcijas pastiprināšanos, kā arī izteiktāku mucīna produkciju un kausveida gļotšūnu skaita daudzuma palielināšanos (Barnes et al., 2009). Līdzīga funkcija noteikta *CD8+* T limfocītiem, kuru producētais *IL-4* veicina gļotu hipersekreciju, kas raksturīga hroniskam bronhītam (Miotto et al., 2003). Tāpat arī *IL-4* veicina pašu T limfocītu diferenciāciju (Barnes et al., 2009), ietekmē T limfocītu funkcijas, izraisa bronhu dziedzeru hiperplāziju un gļotu pārprodukciju, kā arī gludās muskulatūras šūnu hiperplāziju un hipertrofiju (Kumar & Sharma, 2010). Lai gan statistiski nozīmīgu *IL-4* saistību ar minētajām pārmaiņām mūsu pētījumā nenoteicām, jādoma, ka *IL-4* daļēji varētu būt saistīts ar iepriekš minētajām morfoloģiskajām pārmaiņām, bet individuālā apmērā un klātesot citu norišu ietekmei. Līdzīgā *IL-1α* un *IL-4* atradne kontroles grupas alveolāro makrofāgu, bet HOPS pacientu bronhu epitēlijā rosina domāt par elpceļu daļu iesaisti atbildes reakcijā uz kairinātājiem normas un slimību gadījumos, kā arī *IL-1α* un *IL-4* fiksētu mijiedarbību.

HOPS pacientiem visvairāk ***IL-6*** imūnreaktīvo šūnu noteicām gļotādas asinsvados un bronhu epitēlijā, turklāt atradne bronhu epitēlijā bija statistiski nozīmīgi visizteiktākā. HOPS pacientu audos *IL-6* atradne bija statistiski

nozīmīgi saistīta ar *IL-8*, *IL-10*, *TIMP-2* atradni. Zinot, ka *IL-6* inducē citu citokīnu izdalī, pieņemam, ka šī funkcija ir aktuāla visās augstākminētajās lokalizācijās. Tomēr *IL-6* pēfītas arī reģeneratīvas un aizsargfunkcijas (Scheller et al., 2011). *IL-6* funkcijas ir līdzatkarīgas no citu audu faktoru atradnes lokāli audos, kur daudzu faktoru klātbūtnē *IL-6* var veikt diametrāli pretējas funkcijas, t.i., funkcionējot kā iekaisuma un pretiekaisuma citokīns (Barnes, 2004b). *IL-6* ir pleiotropisks citokīns, kas kontrolē T šūnu infiltrāciju plaušās, veicina gļotu sekrēciju, sekmē tuklo šūnu proliferāciju un kontrakcijas bronhu gludās muskulatūras šūnās (Xia et al., 2013; Luzina et al., 2015). Svarīgi, ka *IL-6* regulē citu šūnu regulējošu funkciju, kā arī realizē imūnmodulējošu funkciju t.sk. gludajā muskulatūrā (Xia et al., 2013). *IL-6* tiek izdalīts agrīni infekcijas apstākļos no veselajām šūnām, salīdzinot ar inficētajām šūnām, saistot šādu atradni ar *IL-6* regulācijas potenciālu (Copenhaver et al., 2015). Galvenie *IL-6* avoti ir struktūras, kas vairāk pakļautas gaisā esošajiem antigēniem, tomēr *IL-6* lielā mērā izdala veselas šūnas, nevis kairinātāju bojātas šūnas, tādēļ izpratni par *IL-6* funkcijām varētu skaidrot ar *IL-6* starpnieka lomu dažādās signālpārnesēs, nevis *IL-6* lomu iekaisuma reakciju ierosināšanā. HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi lielāku *IL-6* imūnreaktīvo šūnu atradni gļotādas saistaudos saistībā ar bronhu epitēlija metaplāziju, kas rosina domāt par *IL-6* palielinātu produkciju saistaudos epitēlija bojājuma gadījumā, visticamāk, metaplazēta epitēlija šūnu izdalītu citu faktoru ierosinoša efekta rezultātā.

HOPS pacientiem visvairāk *IL-8* imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu epitēlijā, kas bija arī statistiski nozīmīga atradne. Un *IL-8* atradne bija statistiski nozīmīgi saistīta ar *TNF- α* , *IL-7*, *IL-10*, *TGF- β 1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2* atradni dažādās lokalizācijās. Īpaši izteikta šī savstarpējā saistība bija starp *IL-8* un *IL-7*, *IL-10*, kā arī *TIMP-2* atradni savstarpēji dažādās lokalizācijās. Citokīns *IL-8* parasti piedalās iekaisuma procesos, kas saistīti ar neitrofilo leukocītu iesaisti (Barnes, 2001). Kopumā HOPS skartos plaušu audos *IL-8* plaušās

producē neitrofilie leukocīti, T limfocīti, monocīti, makrofāgi (t.sk. audu makrofāgi), NK šūnas un tuklās šūnas (Mukaida, 2003), kā arī elpceļu epitēlijšūnas, fibroblasti, endoteliocīti un gludie miocīti (van Eeden & Terashima, 2000; Mukaida, 2003; de Boer et al., 2007; Sarir et al., 2008), kas liecina par to, ka šis citokīns tieši iesaistīts minēto struktūru funkcijās iekaisuma apstākļos. Tāpat viens no galvenajiem iekaisuma citokīnu *IL-8* avotiem ir plaušu elpceļu epitēlijs (Sarir et al., 2008; Nadigel et al., 2013), kas izskaidro *IL-8* atradni mūsu pētījumā, kur noteicām izteikti vairāk *IL-8* imūnreaktīvo šūnu bronhu epitēlijā.

Pētot *IL-8* atradnes saistību ar *IL-7*, turklāt HOPS pacientiem, praktiski nav literatūras par šo citokīnu savstarpējo mijiedarbību. *IL-8* plaušās ierosina hemopoēzi, hemopoētisko šūnu mobilizāciju un aktivē monocītu-makrofāgu sistēmu, nodrošina leukocītu un makrofāgu hemotaksi, un aktivāciju, koordinē šūnu migrāciju, sāk iekaisumu ar neitrofilo sekvestrāciju, ekstravazāciju, ierosina leukocītu degranulāciju un asinsvadu caurlaidības palielināšanos, kā arī stimulē angiogēnēzi (van Eeden & Terashima, 2000; Mukaida, 2003; Sarir et al., 2008; Allen & Kurdowska, 2014). Domājot par *IL-7* līdzīgu regulatoro lomu (Dooms, 2013; Zaunders et al., 2014), *IL-8* un *IL-7* saistība varētu būt saistīta ar iekaisuma reakcijas uzturēšanu un iekaisuma šūnu attīstības, diferenciācijas un funkcionalitātes regulāciju. Savukārt *IL-10* tieši inhibē *IL-8* izdali no imūnajām šūnām (Taylor et al., 2007; Commins et al., 2008; Castellucci et al., 2015; Higaki et al., 2015), tādēļ domājam, ka *IL-10* kavē *IL-8* efektus un normalizē iekaisuma procesus, tādējādi mazinot potenciālo audu bojājumu.

IL-8 aktivētie neitrofilie leukocīti degranulējas, izdalot proteāzes, kas tālāk izraisa epitēlija, *ECM* bojājumu un elpceļu remodelāciju. Paralēli tam izdalās arī augšanas faktori, kas darbojas tieši pretēji jeb veicina audu atjaunošanos. Šo procesu līdzsvaru nosaka citu faktoru izdale audos, kas savukārt nosaka vai nu destrukcijas procesu, vai arī reģenerācijas procesu pārsvaru (de

Boer et al., 2007). Līdzīgi kā *IL-10*, arī *TIMP-2* varētu būt līdzīga, t.i., kavējoša ietekme uz *IL-8*. kas varētu skaidrot *IL-8* un *TIMP-2* ciešo saistību. HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi lielāku *IL-8* imūnreaktīvo šūnu atradni bronhu epitēlijā un dziedzeros saistībā ar bronhoskopiski noteiktu hipertrofiju. Iespējams, *TIMP-2*, nomācoši regulējot *IL-8*, vienlaikus veicina fibrozes veidošanos, kas ir viena no galvenajām *TIMP-2* funkcijām (Arpino et al., 2015).

HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi mazāku *IL-8* imūnreaktīvo šūnu atradni bronhu epitēlijā un dziedzeros saistībā ar bronhu epitēlija metaplāziju. Veselu cilvēku elpceļu epitēlija šūnas pastiprināti izdalīja *IL-8*, nekavējoties reaģējot uz cigarešu dūmiem, savukārt HOPS skartu indivīdu elpceļu epitēlija šūnas izdalīja mazāk *IL-8* (Nadigel et al., 2013), kas varētu norādīt uz metaplazēta elpceļu epitēlija šūnu funkcionāliem traucējumiem un iesaisti iekaisuma procesā.

HOPS pacientiem visvairāk *TNF-α* imūnreaktīvo šūnu noteicām saistaudos un bronhu epitēlijā, kā arī asinsvados. HOPS pacientu audos *TNF-α* atradne bija statistiski nozīmīgi saistīta ar *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* atradni dažādās lokalizācijās. *TNF-α* ir viens no iekaisuma ‘dziļuma’ rādītājiem, kas mūsu HOPS pacientiem acīmredzot visaktīvāk skar bronhu gļotādu, īpaši saistaudus. *TNF-α*, ko atbrīvo elpceļu epitēlija šūnas un makrofāgi, uzsāk iekaisuma procesu un ir viens no visātrāk izdalītajiem iekaisuma citokīniem (Brusselle et al., 2011), turklāt *TNF-α* izraisa citu iekaisuma citokīnu izdalīšanos, kuriem kopā ir plašas iekaisumu ierosinošas īpašības (van den Berg et al., 2005; Sarir et al., 2008). Sakarā ar iekaisuma citokīnu stimulāciju (piemēram, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*), dažādas imūnās šūnas piedalās iekaisuma reakcijās, kas secīgi vēlāk saistās arī ar turpmāku elpceļu sienas remodelāciju (Srivastava et al., 2007). Eksperimentālajā HOPS modelī dzīvnieku plaušās noteikta *IL-6* un *TNF-α* paaugstināta ekspresija, salīdzinot ar kontroli (Li et al.,

2016). Augsts *IL-8* un *TNF- α* līmenis kopā HOPS slimnieku plaušu audos var norādīt uz pārmērīgu iekaisumu atbildes reakciju pret kairinātāja izraisītu audu bojājumu. Diemžēl iekaisuma vidē *TNF- α* izklūst no fizioloģiski nomācošas *IL-10* ietekmes (Castellucci et al., 2015). Tas varētu skaidrot, kādēļ kontroles grupas audos noteicām *TNF- α* atradnes saistību ar *IL-10*, bet HOPS pacientu audos – ne.

HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi lielāku *TNF- α* imūnreaktīvo šūnu atradni gļotādas asinsvados saistībā ar fibrozes atradni. Zināms, ka *TNF- α* ierosina *MMP-2* izdalīšanos HOPS skartu audu saistaudos (Lagente et al., 2005), taču audu remodelācijas līdzsvara uzturēšanā *MMP-2* izdale ir arī cieši saistīta ar *TIMP-2* izdali (Rohani & Parks, 2015). *TGF- β 1*, kas pakļauts *TNF- α* iedarbībai, samazināja aktīvo *MMP-2* un kopējo *MMP-2* sintēzi plaušu fibroblastos, kas liek domāt, ka *TGF- β 1*, *MMP-2*, *TIMP-2* un *TNF- α* varētu būt savstarpēji saistīti plaušu iekaisumā un fibrozē (Ye et al., 2011). Tā kā HOPS pacientu audos noteicām *TNF- α* saistību ar *MMP-2* un *TIMP-2*, jādomā, ka *TNF- α* un fibrozes atradni nosaka *MMP-2*, *TIMP-2* un *TGF- β 1* savstarpējā mijiedarbība, turklāt *TNF- α* piedalās remodelācijā.

Zināms, ka *hBD-2* (Li et al., 2015) un *hBD-3* (Dhople et al., 2006) izdali elpceļu epitēlijšūnu kultūrā ierosina *TNF- α* , tādēļ *TNF- α* atradne gan kontroles, gan HOPS pacientu audos saistībā ar *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* atradni varētu būt saistīta ar antimikrobās aizsardzības regulāciju iekaisuma apstākļos. Tiesa, *TNF- α* neiedarbojas uz *hBD-4* ekspresiju, jādomā, ka šo atradni varētu skaidrot ar *hBD-4* strukturālo un funkcionālo saistību ar citiem defensīniem (García et al., 2001a; Jarczak et al., 2013).

HOPS pacientiem arī visvairāk *IL-7* imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu epitēlijā, turklāt šī atradne bija statistiski nozīmīga. HOPS pacientu dažādu lokalizāciju *IL-7* atradne bija statistiski nozīmīgi saistīta ar *IL-10*, *TGF- β 1*, *MMP-2*, *TIMP-2* atradni. Iepriekš pārspriestā *IL-7* saistība ar iekaisuma procesa

norises un šūnu regulāciju, kas varētu būt *IL-7* un *IL-8* savstarpējās mijiedarbības skaidrojums, varētu iezīmēt arī *IL-10* līdzdalību šajā savienībā, jo savukārt *IL-8* ir cieši saistīts ar *IL-10*. Diemžēl vienotu *IL-7*, *IL-8*, *IL-10* savstarpējās saistības skaidrojumu literatūrā neatradām, tomēr pieņemam, ka visi minētie citokīni ir saistīti ar T limfocītu subpopulācijām (Allen & Kurdowska, 2014; Zaunders et al., 2014; Castellucci et al., 2015; Higaki et al., 2015; Akdis et al., 2016).

HOPS pacientiem visvairāk ***IL-12*** imūnreaktīvo šūnu noteicām asinsvados, saistaudos, kā arī bronhu epitēlijā. Šeit dažādu lokalizāciju *IL-12* atradne bija vidēji cieši saistīta ar *IL-10*, *Hsp-70* un *hBD-3* atradni. Peļu plaušu audos *IL-12* veicina remodelācijas procesus un fibrozi, kā arī ierosina *TGF-β1* gēna ekspresiju un produkciju audos (Hackett et al., 2014), tādēļ jādomā, ka *IL-12* funkciju gan veselu, gan slimu indivīdu plaušu audos varētu saistīt ar reģenerāciju. Savukārt, *IL-12* un *hBD-3* savstarpējā saikne, iespējams, norāda uz to, ka abus faktorus saista imūno šūnu regulējoša funkcija (Nagaoka et al., 2008; Commins et al., 2010; Haarmann et al., 2015). *IL-12* un *IL-10* savstarpējā atradne skaidrojama ar *IL-10* inhibējošu ietekmi uz *IL-12* izdali no imūnajām šūnām, kā arī *IL-10* nomāc *IL-12* ar makrofāgu starpniecību (Taylor et al., 2007; Commins et al., 2008; Higaki et al., 2015). Tādējādi *IL-12* loma HOPS morfopatogēnēzē, par kuru literatūrā praktiski datu nav, uzskatāma par novatoru un oriģinālu.

Kopumā HOPS pacientiem visvairāk ***IL-10*** imūnreaktīvo šūnu noteicām saistaudos, asinsvados, kā arī bronhu epitēlijā, turklāt atradne epitēlijā bija statistiski nozīmīgi visizteiktākā. Papildus iepriekš norādītajai *IL-10* saistībai ar *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-7* un *IL-12* HOPS pacientu audos, jānosauc arī saistība ar *MMP-2*, *TIMP-2*, *TGF-β1*. Pretiekaisuma reakcija ar līdzpastāvošu iekaisumu atklāj iekaisuma, pretiekaisuma un regulējošo citokīnu starpšūnu signālpārnesi, kas liek domāt, ka šūnām, kas spēj izdalīt *IL-10*, ir spēcīga ietekme uz imūnās reakcijas kontroli pār iekaisuma norisi (izteiktību, lokalizāciju, apmēru, ilgumu utt.) (Akdis et al., 2016; Barnes, 2016; Wang et al., 2018). *IL-10* ir spēcīgs

pretiekaisuma citokīns, kur *IL-10* izdalīšanās uztur nomācošu iedarbību uz iekaisuma procesiem (Brusselle et al., 2011). *IL-10* inhibē iekaisuma citokīnus *IL-1*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-12* un *TNF-α* (Taylor et al., 2007; Commins et al., 2008; Castellucci et al., 2015; Higaki et al., 2015), kas atbilst mūsu pētījuma atradnei. Attiecīgi HOPS patoģenēzē jāizceļ *IL-10* ārkārtīgi nozīmīgā loma pretiekaisuma reakcijas uzturēšanā gan akūta, gan hroniski noritoša iekaisuma apstākļos. Jāuzsver, ka kopējā citokīnu mijiedarbības un lokālo audu pārmaiņu kontekstā HOPS skartos plaušu audos *IL-10* nodrošina lokālu aizsargfunkciju, stabilizējot iekaisuma procesus, šūnu un audu bojājumu (Nadigel et al., 2013). Iespējams, šis skaidrojums arī daļēji pamato *IL-10* atradnes saistību ar *MMP-2*, *TIMP-2*, *TGF-β1* HOPS pacientu audos, lai gan *IL-10* atradnes saistību ar šiem remodelācijā nozīmīgajiem faktoriem literatūrā praktiski neatradām. *In vitro* dzīvnieku eksperimenti parādīja, ka rekombinantais *IL-10* veicināja *TGF-β1* ekspresiju alveolārajos makrofāgos (Barbarin et al., 2004). Jādomā, ka *IL-10* tieši saistīts ar *TGF-β1*, kas pastarpināti savukārt sasaista *IL-10* ar *MMP-2* un *TIMP-2*, un abu faktoru radītajiem remodelācijas notikumiem.

3.4. Remodelācijas faktori un aktivitātes indikatori HOPS skartu plaušu audos

Audu remodelācijas procesus būtiski ietekmē viena no visspēcīgākajām un daudzfunkcionālākajām molekulām *TGF-β1*. Šis faktors regulē imūnās funkcijas, iekaisuma procesus, audu remodelāciju, fibrozi, kā arī brūču dzīšanu (audu bojājuma reģenerāciju). Šīs daudzfunkcionālās īpašības, protams, ir mainīgas, *TGF-β1* atrodies citu molekulu vidē (augšanas, iekaisuma, pretiekaisuma, regulējošo) (Tang et al., 2014). Nosakot *TGF-β1* efektus, ir jāņem vērā visu notiekošo audu izmaiņu kopējais konteksts (Stewart et al., 2018). Audu bojājumos, ko izraisa oksidatīvs stress un iekaisuma reakcijas, notiek *ECM* degradācijas procesi. Audu strukturālo komponentu peptidāzes (piemēram, *MMP-2*) noārda *ECM* kolagēnu, elastīnu, bazālo membrānu, laminīnu, kā arī

fibronektīnu. Interesanti, ka sadalīti matricas komponenti var vēl vairāk pastiprināt iekaisuma procesus (Saito et al., 2018). *TIMP-2* ir kritiski svarīgs *MMP-2* antagonists, kas veicina audu bojājumu sadzīšanu un brūču atjaunošanos, turklāt *TIMP-2* ir saistīts ar labāku elpceļu funkcionālo atradi HOPS (Turino, 2007; Ghanei et al., 2010).

Kopumā HOPS pacientiem visvairāk *TGF-β1* imūnreaktīvo struktūru noteicām asinsvados, saistaudos, kā arī bronhu epitēlijā, kas nozīmē, ka tieši šīs struktūras intensīvi remodelējas HOPS gadījumā. To apstiprina arī fakts, ka HOPS pacientiem noteicām statistiski nozīmīgu saistību starp *TGF-β1* un *MMP-2*, *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu daudzuma atradni. *TGF-β1* sekrēcija no bojātām epitēlija šūnām ierosina elpceļu epitēlija reģenerāciju un tālāku *ECM* remodelāciju gļotādas saistaudos (Boxall et al., 2006), veicina elpceļu šūnu proliferāciju, metaplāzijas veidošanos, kā arī veicina elpceļu fibrozi (Shaykhiev & Crystal, 2014). Cilvēka plaušu audu fibroblastu kultūrās *TGF-β1* inhibē gan *MMP-2*, gan *TIMP-2* izdali, līdzsvarojot remodelācijas procesus (Eickelberg et al., 1999). Lai arī *TGF-β1* saistīts ar plašām aizsargfunkcijām, novēršot nelabvēlīgu morfoloģisko procesu norisi, piemēram, epitēlijšūnu kultūrā uzsākot epitēlija bojājuma atjaunošanos, diemžēl citu faktoru klātbūtne var mazināt *TGF-β1* efektus, proti, *MMP-2* veicina epitēlija bojājumus, turklāt pat epitēlija reģenerācijas laikā (Lechapt-Zalcman et al., 2006). *TGF-β1* citokīna *TNF-α* klātbūtnē izraisīja *MMP-2* produkcijas regulēšanu plaušu fibroblastos, t.i., samazinot *MMP-2* aktīvās formas un kopējo *MMP-2* sintēzi (Ye et al., 2011), kas liek domāt, ka *TGF-β1*, *MMP-2* un *TNF-α* varētu būt kopēja saistība plaušu iekaisumā un fibrozē. Tā kā *TNF-α* veicina *MMP-2* izdali (Lagente et al., 2005), tad jādoma, ka *TGF-β1* jau iekaisuma laikā, pirms vēl sākušies remodelācijas procesi, jau pastarpināti kavē gan *ECM* degradācijas procesus, gan fibrozes veidošanos. Šī ir ļoti būtiska *TGF-β1* protektīva funkcija, līdzsvarojot

remodelācijas procesus. Kopumā *TGF-β1* ir būtisks HOPS morfopatogēnēzes dalībnieks, kas saistīts gan ar iekaisuma, gan remodelāciju regulējošu funkciju.

HOPS pacientiem visvairāk *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu noteicām asinsvados, saistaudos, kā arī bronhu epitēlijā, turklāt *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu daudzums bronhu epitēlijā bija statistiski nozīmīgi visizteiktākais. Praktiski mēs varam secināt, ka bronhu sienas struktūras aktīvi izdala *MMP-2*. HOPS pacientu audos noteicām statistiski nozīmīgu saistību starp *MMP-2* un *TIMP-2*, kā arī starp *MMP-2* un *hBD-2* atradni.

MMP-2 ir atrodams bronhu epitēlija šūnās, endotēlija šūnās, makro-fāgos, pneimocītos, fibroblastos un gludās muskulatūras šūnās (Hayashi et al., 1996; Kawano et al., 1997; Solli et al., 2013; Zou et al., 2016). Tiek uzskatīts, ka epitēlija audi ir svarīgākais *MMP-2* avots un krātuve, nevis saistaudi (Xu et al., 2002). HOPS gadījumā no gaisa ieelpotie kairinātāji var bojāt epitēlija audus, turklāt šis bojājums var vēl vairāk provocēt iekaisumu, piesaistot jaunas imūnās šūnas un aktivizējot proteolītisko vidi, pārsvarā izmantojot kolagenāzi *MMP-2* (Bagdonas et al., 2015). Tas sakrīt ar mūsu pētījumā noteikto, ka *MMP-2* atradne HOPS gadījumā ir izteiktāka epitēlija audos. Kopumā HOPS pacientiem mēs atradām lielāku *MMP-2* saturošu šūnu daudzumu epitēlija audos un saistaudos, kas, jādoma, saistīts ar šo lokalizāciju vislielāko nozīmi remodelācijas procesos. Epitēlija audos producētās matricas metaloproteināzes var ietekmēt plaušu audu remodelāciju subepitēliālajos saistaudos. Aktivētās bronhu epitēlija šūnas modificē elpceļu mikrovidi, autokrīnā veidā izdalot gan pro-*MMP-2*, gan aktīvo *MMP-2* (Chu et al., 2006).

Statistiski nozīmīgi mazāku *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu atradni bronhu epitēlijā HOPS pacientiem noteicām saistībā ar bronhoskopiski noteiktu hronisku endobronhītu. Lai arī klasiski HOPS tiek saistīta ar izteiktu *MMP-2* atradni, literatūrā atrod arī pretējus datus, proti, cilvēka elpceļu epitēlija šūnās matricas metaloproteināzes tomēr ir atrastas tikai dažās plaušu audu epitēlija

šūnās kontroles subjektiem (Miller et al., 2008), un arī cigarešu dūmu kairinātāja ietekmē *MMP-2* izdale no saistaudu fibroblastiem samazinās (La Rocca et al., 2007). Tas rosina domāt par *MMP-2* regulāciju dažādu citu faktoru ietekmē, kā arī zināmu gan *MMP-2* atradnes, gan morfopatogēnēzes procesu variabilitāti un individuālu gaitu.

Savukārt statistiski nozīmīgi lielāku *MMP-2* saturošu šūnu atradni HOPS pacientiem noteicām gļotādas saistaudos un asinsvados saistībā ar fibrozes atradni, kā arī sabiezētu asinsvadu sienīņu. Šī atradne saistāma ar *MMP-2* un *TIMP-2* līdzsvaru, kur fibrozes veidošanās gadījumā, pastāvot *TIMP-2* pārsvaram pār *MMP-2*, *MMP-2* daudzums var palielināties, tiecoties saglabāt remodelācijas procesu līdzsvaru (Sariahmetoglu et al., 2007; Rohani & Parks, 2015).

HOPS pacientiem visvairāk *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu noteicām asinsvados, saistaudos, kā arī bronhu epitēlijā, turklāt *TIMP-2* atradne bronhu epitēlijā bija visizteiktākā. Turklāt HOPS pacientu audos *TIMP-2* bija statistiski nozīmīgi saistīts ar *hBD-2*, *hBD-3*. *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu daudzums bronhu epitēlijā, asinsvados un gludajā muskulatūrā bija lielāks nekā *MMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaits, bet līdzīgs vai neizteikti mazāks – bronhu dziedzeros un gļotādas saistaudos, kas nozīmē, ka pēdējās lokalizācijās *TIMP-2* nenomāca degradācijas enzīmus. *TIMP-2* ir atrasts epitēlija šūnās, makrofāgos, alveolārajā epitēlijā, fibroblastos un normālu plaušu audu miofibroblastos (Hayashi et al., 1996; Karakiulakis et al., 2007).

TIMP-2 un *MMP-2* izplatības modelis liek domāt, ka *TIMP-2* ietekme galvenokārt ir lokāla un bieži atbilst *MMP-2* atrašanās vietai. Lai saglabātu *ECM* vides stabilitāti, *TIMP-2* tieši kavē *MMP-2*, tāpēc *TIMP-2* atrašanās vieta ir izšķiroša. Tiek uzskatīts, ka *TIMP-2* tieši nomāc *MMP-2*, kas vēl vairāk nomāc *TGF-β1*; turklāt, ja *TIMP-2* aktivizē *MMP-2*, *TGF-β1* izdalās pastiprināti, lai palielinātu fibrozo aktivitāti saistaudu stromas šūnās un varētu izraisīt fibrozi

(t.i., pretēji *MMP-2* efektam). Tā kā *TIMP-2* jau kavē *MMP-2*, *TGF-β1* aktivācija ir ierobežota un attiecīgi var samazināties arī *ECM* nogulsnešanās (Arpino et al., 2015). Tāpēc *TIMP-2* palielināšanās, ko mēs atradām, bija atbilde uz palielināto *MMP-2* un *TGF-β1*. Jādomā, ka HOPS remodelācijā galvenā audu atradne ir saistīta ar *TIMP-2* pārsvaru pār *MMP-2*, turklāt šo pieņēmumu apstiprina elpceļu fibrozes atradne mūsu pacientiem.

Kopumā HOPS pacientiem noteicām ļoti maz *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu vai tādas neatradām visās lokalizācijās, un tas liecina par samazinātu šūnu aktivitāti. *Hsp-70* sintēze tiek pastiprināti regulēta fiziskā vai ķīmiskā stresa laikā, tāpēc tā palīdz novērst olbaltumvielu denaturāciju un degradāciju, lai aizsargātu pret šūnu un audu bojājumiem visus cilvēka audus (Lee et al., 2004; Qu et al., 2015). Kaut arī *Hsp-70* ir aizsargājoša loma pret citotoksiskiem bojājumiem un to regulē dažādi faktori, būtiska pielāgošanās hroniskam oksidatīvajam stresam notiek, pazeminot *Hsp-70* līmeni (Xie et al., 2010; Qu et al., 2015). Zems mūsu pētījumā konstatētais *Hsp-70* imūnreaktīvo šūnu skaits varētu rasties, ja stresa apstākļi ilgstošas un nepārtrauktas kairinātāja iedarbības apstākļos uztur šūnu un audu bojājumu, kas var izraisīt *Hsp-70* izsīkumu. To pamato arī literatūrā aprakstīts augsts *Hsp-70* līmenis akūta bojājuma gadījumā (Qu et al., 2015), bet zems – ilgstoša kairinātāja iedarbības rezultātā (Wu et al., 2013).

Hsp-70, ko izdala paša organisma šūnas, iedarbojas uz zvanveida receptoriem līdzīgi kā bakteriālas izcelsmes molekulas, tā aktivējot deta defensīnu izdali. Piemēram, ir zināms, ka zvanveida receptors-2 (*TLR-2*) regulē *hBD-2* izdali (Bals & Hiemstra, 2004), kas varētu izskaidrot mūsu pētījumā noteikto *Hsp-70* saistību ar beta defensīniem.

3.5. Lokālā antimikrobā aizsardzība HOPS skartu plaušu audos

HOPS pacientiem visvairāk ***hBD-2*** imūnreaktīvo šūnu noteicām bronhu epitēlijā, asinsvados, kā arī saistaudos. Kontroles grupā un HOPS pacientiem noteicām statistiski nozīmīgu saistību starp *hBD-2* un *hBD-3*, kā arī starp *hBD-2* un *hBD-4* atradni dažādās lokalizācijās. HOPS pacientiem arī noteicām statistiski nozīmīgi lielāku *hBD-2* imūnreaktīvo šūnu atradni gļotādas saistaudos saistībā ar sabiezētas bazālās membrānas atradni, kas varētu norādīt uz epitēlija un saistaudu savstarpējo mijiedarbību, kā arī *hBD-2* pastarpināto nozīmi remodelācijā.

HOPS pacientiem visvairāk ***hBD-3*** imūnreaktīvo šūnu noteicām asinsvados, saistaudos, kā arī bronhu epitēlijā. Savukārt ***hBD-4*** imūnreaktīvo šūnu HOPS pacientiem bija maz visās lokalizācijās.

Audu antimikrobās aizsardzības faktori, ieskaitot *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4*, ir neatņemami iedzimtās aizsargfunkcijas realizācijā. Dažādu orgānu epitēlijā ir atrasta variabli izteikta *hBD-2* ekspresijas atradne. Svarīgi, ka *hBD-2* darbojas sinerģiski kopā ar citiem antimikrobiālās aizsardzības proteīniem, piemēram, lizocīmu un laktoferīnu (Gosselink et al., 2010), kā arī var darboties kā monocītu, makrofāgu, neitrofilo leukocītu un nenobriedušu dendrītisko šūnu hemotakses signālmolekula (Jarczak et al., 2013).

Tiek uzskatīts, ka *hBD-3* ir baktericīdas un pretvīrusu funkcijas (Winter & Wenghoefer, 2012). *hBD-3* relatīvas normas apstākļos izdalās nepārtraukti “bāzes” līmenī, turklāt *hBD-3* darbojas arī kā imūno šūnu hemotakses signālmolekula (Haarmann et al., 2015). Savukārt *hBD-4* ir spēcīgas pretmikrobu īpašības, kā arī augstāka funkcionālā aktivitāte, salīdzinot ar *hBD-2* un *hBD-3* (Harder et al., 2001). Diemžēl antimikrobās aizsardzības faktori plaušu audos HOPS gadījumā pērti ļoti maz. Gan *hBD-2*, gan *hBD-3* piedalās iedzimtā saimnieka aizsardzības sistēmā pret iespējamo baktēriju kolonizāciju, kas raksturīga HOPS (Winter & Wenghoefer, 2012; Haarmann et al., 2015). *hBD-4*

izdali ierosina atsevišķi signālceļi, kas nav līdzīgi *hBD-2* un *hBD-3* aktivācijas signālceļiem (Diamond et al., 2000; García et al., 2001a, 2001b). Tas daļēji varētu izskaidrot, kādēļ *hBD-4* atrade HOPS pacientiem bija krasi atšķirīga no *hBD-2* un *hBD-3* atrades, proti, mazāka, salīdzinot ar kontroles grupas pacientiem. Tādējādi jādomā, ka *hBD-4* loma un funkcijas gan veselu plaušu audu, gan HOPS skartu audu kopējā visu faktoru vidē un starpšūnu komunikācijā ir maznozīmīga. Attiecīgi palielināts *hBD-2* un *hBD-3* (bet ne *hBD-4*) skaits var liecināt par to saistību ar HOPS morfopatogēnēzi.

3.6. Plaušu audu ontogēneses pārmaiņas

Papildus šajā pētījumā tika noteikta dažādu audu faktoru atradne relatīvi veselu un HOPS skartu plaušu audos ontogēneses aspektā, kas norāda uz novecošanas pārmaiņām. Šī pētījuma daļa būtiski papildina morfoloģijas zinātnēs, fundamentālajā un klīniskajā pulmonoloģijā iepriekš veikto pētījumu rezultātus.

Plaušu augšana veselam indivīdam norisinās līdz 10–12 gadu vecumam, savukārt plaušu nobriešana turpinās līdz 25 gadu vecumam, funkcionālo maksimumu sasniedzot apmēram 20 gadu vecumā. Pēc 25 gadu vecuma plaušu funkcija pamazām regresē (Brandsma et al., 2017). Ar vecumu saistītu iekaisuma stāvokli, ko nesaista ar iekaisīgām slimībām, sauc par novecošanās iekaisumu (*inflammaging*). Šajā fenomenā novēro imūnās sistēmas funkciju nepilnīgumu vai pat zudumu, iekaisuma un pretiekaisuma citokīnu disbalansu, kā arī zemas pakāpes bāzes iekaisumu ar iekaisuma citokīnu pārsvaru, savukārt zemu pretiekaisuma citokīnu aktivitāti (Franceschi et al., 2007). Normālas plaušu novecošanās gadījumā atrod palielinātu neitrofilo leukocītu daudzumu audos, palielinātu reaktīvā skābekļa un slāpekļa brīvo radikāļu daudzumu, gēnu bojājumus, nepilnīgi modificētu proteīnu uzkrāšanos, kas kopā sāk iekaisuma citokīnu izdali plaušu audos (Lalley, 2013).

TNF- α , *IL-6* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits audos indivīdiem 9–49 gadu vecumā dažādās lokalizācijās palielinājās, pieaugot indivīda vecumam. Savukārt indivīdiem 50 un vairāk gadu vecumā audu materiālā dažādās lokalizācijās palielinājās *IL-4* un *IL-6* imūnreaktīvo šūnu skaits, palielinoties indivīda vecumam. Jādomā, ka šo citokīnu daudzuma vienmērīga palieli-nāšanās, indivīdiem novecojot, varētu būt saistīta ar novecošanu, t.sk. ar vecumu saistītā iekaisuma procesa norisē. Novecošanās pārmaiņas veselās plaušās ir saistītas ar iekaisuma citokīnu *IL-1 α* , *TNF- α* , *IL-4*, *IL-6*, *IL-8* un *IL-12* daudzuma palielināšanos un pretiekaisuma citokīna *IL-10* daudzuma samazināšanos (Sharma et al., 2009; Lee et al., 2012; Lowery et al., 2013; Ito & Mercado, 2014), kas saistāms ar plaušu funkciju regresiju un iekaisuma aspektā.

Kopumā visu kontroles pacientu audu materiālā *IL-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā un asinsvados, kā arī *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu skrimslī palielinās, bet *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits bronhu epitēlijā, saistaudos, kā arī *IL-6* imūnreaktīvo alveolāro makrofāgu skaits samazinās, palielinoties indivīda vecumam. Pētot ar vecumu saistīto iekaisuma fenomenu, noskaidrots, ka perifēro asiņu *IL-6* līmenis palielinājās ar vecumu, bet būtiski, ka *IL-6* palielināšanās maksimums bija indivīdiem 50–61 gada vecumā (Milan-Mattos et al., 2019), t.i., šī un, iespējams, citu citokīnu daudzuma palielināšanās saistībā ar novecošanas pārmaiņām ir nevis lineāri saistīta ar vecumu, bet gan šajā atradnē var iezīmēt vecuma diapazonu, kad novēro faktora atradnes maksimumu, bet pārējā laikā – relatīvi mazāku faktora daudzumu.

Indivīdiem 9–49 gadu vecumā *IL-8*, *IL-7*, *IL-10*, *IL-12*, *Hsp-70*, *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits audos dažādās lokalizācijās samazinājās, palielinoties indivīda vecumam. Savukārt indivīdiem 50 un vairāk gadu vecumā audos samazinājās *IL-1 α* , *TNF- α* , *IL-12*, *TGF- β 1*, *Hsp-70*, *TIMP-2*, *hBD-2*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits dažādās lokalizācijās, palielinoties indivīda vecumam. Pētījumi pamato t.sk. iedzimtās un iegūtās

imunitātes imūno šūnu producēto *IL-1α* (Kohut & Senchina, 2004), *TNF-α*, *IL-6* (van Duin et al., 2007; Panda et al., 2010), *IL-8* (Mocchegiani et al., 2009) un *IL-12* (Toapanta & Ross, 2009) samazināšanos līdz ar vecumu kā šūnu novecošanās, aprakstīti kā *immunosenescence* un *cell senescence* fenomeni (Shaw et al., 2010; Bektas et al., 2017), tiešās sekas. Jādomā, ka šīs atradnes saistāmas ar novecošanās izraisītiem imūnās sistēmas regulācijas traucējumiem un pārmainītu imūnās sistēmas spēju reaģēt uz dažādu kairinātāju ietekmi, nevis ekskluzīvi ar iekaisuma veidošanos absolūti visos gadījumos. Tā kā *IL-7* (Gao et al., 2015), *IL-10* (Nadigel et al., 2013), *TGF-β1* (Rohani & Parks, 2015), *TIMP-2* (Eickelberg et al., 1999), *Hsp-70* (Tsan & Gao, 2004) un defensīnu (Yang et al., 2002) funkcijas kopumā saistāmas ar protektīvu iedarbību, šo faktoru imūnreaktīvo šūnu skaita samazināšanās vecuma aspektā varētu būt skaidrojama ar organisma samazinātām spējām realizēt aizsarg-funkcijas. Tā kā noteicām samazinātu *hBD-2*, bet palielinātu *IL-4*, *IL-6* un *TNF-α* imūnreaktīvo šūnu daudzumu, jādomā, ka šī atradne skaidrojama ar šo faktoru savstarpējo mijiedarbību un defensīnu daudzuma samazināšanos novecošanās aspektā (Castañeda-Delgado et al., 2017).

HOPS skartiem visvecākajiem indivīdiem – 75 un vairāk gadu vecumā – funkcionālie rādītāji (FEV_1 (%), FEV_1 (L) un FEV_1/FVC) bija sliktāki, salīdzinot ar jaunākiem HOPS indivīdiem. Tāpat lielāks HOPS pacientu vecums bija statistiski nozīmīgi saistīts ar bronhoskopiski noteiktu hronisku bronhītu, kā arī epitēlija metaplāziju un granulācijas audu atradni pārskata histoloģiskajos griezumos. Zināms, ka HOPS vecākiem indivīdiem ir saistīta ar lielāku komplikāciju, paasinājumu, kā arī mirstības risku (Cortopassi et al., 2017). Zināms, ka praktiski visi funkcionālie rādītāji HOPS pacientiem samazinās līdz ar vecumu (Lange et al., 2015).

HOPS gadījumā ir novērojamas pazīmes, kas ir pārsteidzoši līdzīgas ar vecumu saistītām pazīmēm, piemēram, šūnu novecošanās, cilmes šūnu izsīkums,

palielināts oksidatīvais stress, izmaiņas ārpusšūnu matricē un endogēno novecošanās molekulu un aizsargājošo ceļu, piemēram, autofāgijas, samazināšanās (Mercado et al., 2015). Tādēļ nereti HOPS saista ar paātrinātu novecošanu. Tāpat arī jāņem vērā, ka šādi novecošanas procesi, salīdzinot ar relatīvi veselīgiem indivīdiem, HOPS pacientu plaušu audos notiek paātrināti, turklāt pasliktina arī HOPS norisi (MacNee, 2009, 2016). Būtiski, ka HOPS hroniskais iekaisums veicina plaušu novecošanos un šūnu izsīkumu (Freund et al., 2010).

Papildus relatīvi normālas novecošanās radītam plaušu funkciju samazinājumam un strukturālajām pārmaiņām HOPS gadījumā tiek novērota elpceļu obstrukcija, remodelācijas pārmaiņas, iekaisums, fibroze, kā arī gļotu pārprodukcija. Iedzimtās imunitātes palielināta kompensatora atbildes reakcija, pārspīlēta hemotakse un imūno šūnu uzkrāšanās lokāli ir saistāma ar iekaisuma reakcijas apstākļu veidošanos vecāko HOPS indivīdu plaušās. Tāpat makrofāgu darbībā novēro traucētu fagocitozi. Neitrofilo leukocītu daudzums vecāko HOPS indivīdu plaušās palielinās, veicinot palielinātu proteāžu produkciju, plaušu parenhīmas destrukciju, līdz ar to veicina slimības progresēšanu, paildzina iekaisuma procesu un kopumā ierosina nelabvēlīgas pārmaiņas audos (Brandsma et al., 2017; Cho & Stout-Delgado, 2020).

Plaušu novecošanās morfofopatoģenētiskās norises HOPS pacientiem ir ļoti līdzīgas tām, kuras nosaka stabila gaita HOPS gadījumā, respektīvi, *IL-1α*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α* un proteāžu daudzuma palielināšanās (Brandsma et al., 2017; Divo et al., 2018; Zuo et al., 2019; Cho & Stout-Delgado, 2020). Šīs pārmaiņas noteicām arī mūsu pētījumā. Visu HOPS pacientu audu materiālā *IL-6* imūnreaktīvo šūnu skaits gļotādas saistaudos bija lielāks, palielinoties indivīda vecumam. Atsevišķi 50–64 gadu vecuma grupas HOPS pacientu audu materiālā *IL-6*, *TIMP-2* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits dažādās lokalizācijās bija

lielāks, palielinoties indivīda vecumam, bet 65–74 gadu vecuma grupas pacientu audu materiālā – *IL-4*.

HOPS pacientiem 65–74 gadu vecumā un 75 gadu veciem un vecākiem pacientiem audu materiālā *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-12* un *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaits dažādās lokalizācijās bija lielāks, palielinoties indivīda vecumam, bet 75 gadu veciem un vecākiem pacientiem – *IL-4*, *MMP-2*, *IL-6*, *IL-10*. Viens no novecošanās mehānismiem ir saistīts ar *IL-1α* funkcijām, kas ierosina iekaisuma citokīnu izdalīšanos un kopējo citokīnu daudzuma disbalansu (Freund et al., 2010). Būtiski, ka hroniska iekaisuma apstākļos nereti konstatē palielinātu *IL-10* daudzumu, kas kopējā kontekstā ar iekaisuma mediatoriem tomēr mazina hroniska iekaisuma norisi (Franceschi et al., 2007). Ar šīm likumsakarībām varētu izskaidrot mūsu pētījumā noteikto citokīnu *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-12* un *IL-10* palielināto daudzumu.

Palielināts *TIMPs* pārsvars veicina *ECM* struktūrkomponenšu uzkrāšanos un fibrozes veidošanos, turpretī samazināts *TIMPs* daudzums pastiprina proteolīzi *ECM*, ko veicina *MMPs* pārsvars (Arpino et al., 2015). *MMP-2* ekspresija palielinās plaušās novecošanās rezultātā un izraisa ar vecumu saistītas fenotipiskas izmaiņas plaušu fibroblastos, kā arī būtiski traucē *ECM* atjaunošanos (Brew & Nagase, 2010). *MMP-2* ekspresija izraisa saistaudu pārstrukturēšanos. Gados vecākiem cilvēkiem *MMPs* ir saistīti arī ar iedzimtas imunitātes samazināšanos (Hansen et al. 2015). Jādomā, ka mūsu pētījumā noteiktais palielinātais *MMP-2*, bet samazinātais *TIMP-2* un *TGF-β1* daudzums novecošanās aspektā varētu būt saistīts ar remodelācijas pārmaiņām novecošanās aspektā. Sakarā ar *TIMP-2* samazināšanos gados vecākiem cilvēkiem plaušās ir iespējamās audu degradācijas izmaiņas. Tāpēc *MMP-2* palielināšanās, bet *TIMP-2* un *TGF-β1* samazināšanās, ko mēs atradām novecošanās aspektā, varētu norādīt uz izteiktāku *ECM* degradāciju un audu bojājumu novecošanās aspektā.

Jādomā, ka izteiktāka *IL-1 α* , *IL-4*, *IL-6*, *IL-12*, *IL-10*, *MMP-2* un *hBD-4* atradne liecina par šo faktoru nozīmi novecošanās procesā HOPS gadījumā.

Visu HOPS pacientu audu materiālā *IL-7* imūnreaktīvo šūnu skaits asinsvados kopā bija mazāks, palielinoties indivīda vecumam. Savukārt 50–64 gadu un 65–74 gadu vecuma grupās HOPS pacientu audu materiālā *TNF- α* , *IL-7*, *IL-8*, *Hsp-70*, *hBD-2* un *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu skaits dažādās lokalizācijās bija mazāks, palielinoties indivīda vecumam, bet visvecākajiem HOPS pacientiem (≥ 75 gadi) mazāks bija *IL-7* un *TGF- β 1* imūnreaktīvo šūnu skaits.

Pretēji literatūrā aprakstītajam konstatējām, ka *IL-8* imūnreaktīvo šūnu skaits ir mazāks, palielinoties indivīdu vecumam. *IL-8* produkcijas samazināšanās varētu būt saistīta ar bronhu epitēlijsūnu izsīkstošu kapacitāti un potenciālu reaģēt uz ārvides kairinājumu (Nadigel et al., 2013). Šis ir patiešām pārsteidzošs fenomens, jo HOPS klasiski tiek saistīts ar palielinātu iekaisuma citokīnu (piemēram, *IL-8*) daudzumu. Veicot šīs *IL-8* atradnes padziļinātu izpēti, ir noskaidrots, ka HOPS gadījumā tāpat ir palielināts *IL-8* daudzums, salīdzinot ar “bāzes” *IL-8* daudzumu veselu plaušu audos (de Boer et al., 2000). Pārbaudot šo pieņēmumu, tādu pašu atradni noteicām arī mūsu pētījumā. Attiecīgi jādomā par izteiktāku, salīdzinot ar kontroles grupas audiem, bet kopumā (absolūti) samazinātu faktora izdali šūnu funkcionālo traucējumu dēļ, kas saistāmi ar novecošanu. Šo *IL-8* atradni noteicām saistībā ar *TNF- α* , *IL-7*, *TGF- β 1*, *hBD-2* un *hBD-3* mazāku imūnreaktīvo šūnu skaitu dažādās lokalizācijās, palielinoties indivīdu vecumam.

Tā kā noteicām ciešu *IL-10* un *IL-8* savstarpējo saistību, iespējams, palielināts *IL-10* bija iedarbojies uz *IL-8* izdali. *TGF- β 1* samazināts daudzums ir saistāms ar imūnās sistēmas šūnu novecošanos, kā arī *TGF- β 1* traucētu imūno funkciju uz kopējā iekaisuma citokīnu fona (Hansen et al., 2015)., turklāt neatkarīgi no *TGF- β 1* potenciāli labvēlīgajiem efektiem HOPS gadījumā tāpat

novēro paātrinātu šūnu novecošanos un disfunkciju (Chilosi et al., 2013). Savukārt samazināts *IL-8* un *TNF-α* daudzums varētu būt saistāms ar iekaisuma procesa pildzināšanos.

Līdzīgi kā kontroles grupā, arī HOPS pacientu novecošanās aspektā samazināts defensīnu daudzums varētu būt skaidrojams ar sliktāku aizsargfunkciju nodrošinājumu un imūnās sistēmas spēju pretoties respiratoro saslimšanu ierosinātājiem (Castañeda-Delgado et al., 2017), lai arī šo faktoru daudzums HOPS pacientiem tāpat bija augstāks nekā kontroles grupā. Turklāt *hBD-2* samazināšanās HOPS pacientiem ir novērojama vīrusu un baktēriju ierosinātu infekciju gadījumā (Arnason et al., 2017; Zielinski et al., 2018), kas zināmas kā būtiski riska faktori HOPS sliktākai slimības gaitai, t.sk. novecošanās aspektā (Zielinski et al., 2018; Cho & Stout-Delgado, 2020). Tā kā zināms, ka *hBD-4* daudzums palielinās akūtas, nevis hroniskas elpceļu infekcijas gadījumā (Yanagi et al., 2005), jādoma, ka *hBD-4* palielināšanos līdz ar vecumu varētu skaidrot ar izteiktāku elpceļu reaktivitāti pret dažādiem ierosinātājiem organisma aizsargfunkciju samazināšanās apstākļos.

Savukārt *Hsp-70* atradne HOPS pacientiem jau tā bija zemāka nekā kontroles grupā, tādējādi jādoma, ka šī faktora deficīts vecāka gadagājuma HOPS pacientiem ir saistāms ar būtisku šūnu izsīkumu hroniska iekaisuma gadījumā (Wu et al., 2013).

Kopumā HOPS pacientiem ontogēnēzes aspektā noteicām *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *IL-12*, *MMP-2*, *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaita palielināšanos, bet *IL-7*, *IL-8*, *TNF-α*, *TIMP-2*, *TGF-β1*, *Hsp-70*, *hBD-2* un *hBD-3* imūnreaktīvo šūnu skaita samazināšanos līdz ar vecumu, kā arī hroniska bronhīta, epitēlija metaplāzijas, granulācijas audu atradni un sliktākus funkcionālos rādītājus vecākajiem HOPS pacientiem.

Noslēgumā jāuzsver mūsu pētījuma būtiskākā atradne relatīvi veselu indivīdu un HOPS slimnieku plaušu audos.

Pirmkārt, normālu plaušu audos demonstrējām neizteiktu vai maz izteiktu dažādu faktoru atradni, kas iezīmēja šo faktoru izdales “bāzes līmeni” relatīvas veselības apstākļos, tajā pašā laikā saglabājot audu reaktivitāti un spēju piedalīties dažādu kairinātāju izraisītu bojājumu novēršanā, kā arī atainojot plaušu imunitāti relatīvas normas apstākļos. Būtiski, ka šie fenomeni atrodami dažādās plaušu daļās – bronhu sienā un alveolās, kā arī dažādās histoloģiskās struktūrās.

Otrkārt, HOPS pacientiem noteicām palielinātu *IL-1 α* , *IL-4*, *IL-6* (daļēji), *IL-8* (daļēji), *TNF- α* , *IL-7*, *IL-10*, *IL-12* (daļēji), *TGF- β 1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2*, *hBD-3* (daļēji) imūnreaktīvo šūnu skaitu dažādās bronhu sienas lokalizācijās, bet samazinātu *Hsp-70* un daļēji *hBD-4* imūnreaktīvo šūnu skaitu, salīdzinot ar atradni kontroles grupā. Šo faktoru atradne pamato hroniska iekaisuma un dažādu ar iekaisuma procesa ierosināšanu, uzturēšanu un regulāciju saistītu faktoru mijiedarbības, remodelācijas pārmaiņu, t.sk. regulācijas aspektā, kā arī traucētas aizsargfunkcijas nozīmi HOPS morfoloģiskajā patoloģijā.

4. SECINĀJUMI

1. HOPS pacientu plaušu audus raksturo variabli izteiktas un dažādas lokalizācijas nespecifiskas hroniska iekaisuma un audu remodelācijas pārmaiņas ar iekaisuma šūnu infiltrāciju, granulācijas audiem, sabiezētu bazālo membrānu, bronhu dziedzeru un gludās muskulatūras hipeplāziju un hipertrofiju, sabiezētu asinsvadu sienīņu, kā arī fibrozi un metaplēziju.
2. Kontroles grupas plaušu audos reti un maz konstatētās visu pētāmo faktoru – *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-10*, *TGF-β1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *Hsp-70*, *hBD-2*, *hBD-3* un *hBD-4* – imūnreaktīvās šūnas dažādās lokalizācijās norāda uz šo audu faktoru pamata noturīgu, nepārtrauktu un pielāgojošos “bāzes” līmeni relatīvas normas gadījumā. Izteiktāka šo faktoru atradne bronhu un alveolārajā epitēlijā, kā arī alveolāro makrofāgu kopā saistāma ar plaušu lokālās homeostāzes uzturēšanu, ietverot plaušu vietējo imunitāti un audu reaktivitāti, bet skrimšļaudos – ar hialīnā skrimšļa plastiskumu un potenciālu realizēt kompensatoru lomu.
3. HOPS audus raksturo izteikta tieši iekaisuma citokīnu *IL-1α*, *IL-4*, *IL-8* un *TNF-α* atradne. Palielināts *IL-10* imūnreaktīvo šūnu skaits norāda uz izteiktu audu pretiekaisuma reakciju, bet izteiktā *IL-7* atradne norāda uz aktivētu imūnmodulāciju. *IL-7* atradnes savstarpējā saikne ar citokīnu *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, remodelācijas faktoru *TGF-β1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, šūnu bojājuma marķiera *Hsp-70*, kā arī defensīniem *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* norāda uz kombinētu citokīnu plejādes lomu iekaisuma un pretiekaisuma procesu regulācijā līdztekus remodelācijas, oksidatīvā stresa un antimikrobiālās aizsardzības procesiem.
4. Izteikti lielāks *TGF-β1*, *MMP-2* un *TIMP-2* imūnreaktīvo šūnu skaits, salīdzinot ar kontroles grupu, norāda uz šo faktoru lomu HOPS skartu audu remodelācijas procesos. Nelielais *TIMP-2* pārsvars, iespējams, ierobežo audu destrukcijas procesus, tomēr neizslēdz fibrozes un pūctecīgi arī obstrukcijas

veidošanos HOPS gadījumā. Minēto faktoru saikne ar citokīniem *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-12*, *IL-10*, šūnu bojājuma marķieri *Hsp-70*, kā arī defensīniem *hBD-2*, *hBD-3*, *hBD-4* saista iekaisumu ar remodelāciju. *TGF-β1* saistība ar remodelācijas un iekaisuma procesiem pamato šī faktora duālo funkciju, bet izteikti zems *Hsp-70* – šūnu izsīkumu.

5. Izteikta *hBD-2* un *hBD-3* (bet ne *hBD-4*) atradne pamato HOPS pacientu antimikrobiālo plaušu aizsardzību, liecinot par kopējās un selektīvās antibakteriālās aizsardzības palielināšanos.
6. Audu faktoru visizteiktākā atradne bronhu epitēlijā, saistaudos un asinsvados pierāda šo struktūru būtisku iesaisti un nozīmi HOPS morfofotoģenēzē. Kopumā HOPS morfofotoģenēzi raksturo palielināta *IL-1α*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF-α*, *IL-7*, *IL-10*, *IL-12*, *TGF-β1*, *MMP-2*, *TIMP-2*, *hBD-2* un *hBD-3* atradne, kā arī samazināta *Hsp-70* un *hBD-4* atradne, liecinot par persistējošu kompleksu citokīnu plejādes, audu remodelācijas un kopējās audu antimikrobiālās aizsardzības augstu aktivitāti.
7. Bronhoskopiski noteiktā hipertrofija un hronisks bronhīts ir saistāmi ar *IL-8*, *MMP-2*, *hBD-3* un *hBD-4* atradni HOPS skartos bronhos. Bronhu epitēlija metaplāzija un fibroze pārskata histoloģiskajos griezumos ir tās lokālās audu pārmaiņas, kas saistās ar sliktāku pacientu funkcionālo rādītāju un *IL-6*, *IL-8*, *MMP-2* atradni. Savukārt granulācijas audu atradne ir saistāma ar ilgāku smēķēšanas anamnēzi un izteiktāku audu bojājumu.
8. Ar vecumu saistītās pārmaiņas relatīvi veselu indivīdu plaušās ir individuālas, pat atšķirīgas indivīdiem dažādās vecuma grupās, ko pārsvarā iezīmē iekaisuma trūkums un imūno šūnu skaita variabilitāte, pat samazināšanās. Savukārt HOPS gadījumā novecošanās ir saistāma ar slimības gaitas pasliktināšanos, kā arī HOPS citkārt tipiskajai atradnei raksturīgu iekaisuma citokīnu persistenci un pārmainītu remodelāciju.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Akdis, M. et al. 2016. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 138(4): 984–1010.
2. Allen, T. C., Kurdowska, A. 2014. Interleukin 8 and acute lung injury. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 138(2): 266–269.
3. Arafah, M. A. et al. 2018. Endobronchial biopsy in the final diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease and asthma: a clinicopathological study. *Ann Saudi Med.* 38(2): 118–124.
4. Arnason, J. W. et al. 2017. Human β -defensin-2 production upon viral and bacterial co-infection is attenuated in COPD. *PLoS ONE*. 12(5): e0175963.
5. Arpino, V., Brock, M., Gill, S. E. 2015. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol.* 44–46: 247–254.
6. Bagdonas, E. et al. 2015. Novel aspects of pathogenesis and regeneration mechanisms in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 10: 995–1013.
7. Bai, Y. et al. 2019. Inflammatory Cytokines and T-Lymphocyte Subsets in Serum and Sputum in Patients with Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Med. Sci. Monit.* 25: 2206–2210.
8. Baines, K. J., Simpson, J. L., Gibson, P. G. 2011. Innate immune responses are increased in chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS ONE*. 6(3): e18426.
9. Bals, R., Hiemstra, P. S. 2004. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J.* 23(2): 327–333.
10. Barbarin, V. et al. 2004. Characterization of the effect of interleukin-10 on silica-induced lung fibrosis in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 31(1): 78–85.
11. Barnes, P. J. 2001. Cytokine modulators as novel therapies for airway disease. *Eur Respir J Suppl.* 34: 67–77.
12. Barnes, P. J. 2004a. Alveolar macrophages as orchestrators of COPD. *COPD*. 1(1): 59–70.
13. Barnes, P. J. 2004b. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol. Rev.* 56(4): 515–548.
14. Barnes, P. J. et al. 2006. Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174(1): 6–14.
15. Barnes, P. J. et al. 2009. *Asthma and COPD*. Elsevier, 897p.
16. Barnes, P. J. 2014. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin. Chest Med.* 35(1): 71–86.
17. Barnes, P. J. 2016. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 138(1): 16–27.
18. Barnes, P. J. 2018. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Rev. Immunol.* 18(7): 454–466.
19. Bektas, A. et al. 2017. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *J Leukoc Biol.* 102(4): 977–988.
20. van den Berg, A. et al. 2005. Interleukin-17 induces hyperresponsive interleukin-8 and interleukin-6 production to tumor necrosis factor- α in structural lung cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 33(1): 97–104.
21. de Boer, W. I. et al. 2000. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD. *J. Pathol.* 190(5): 619–626.

22. de Boer, W. I., Alagappan, V. K. T., Sharma, H. S. 2007. Molecular mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease: potential targets for therapy. *Cell Biochem. Biophys.* 47(1): 131–148.
23. Borthwick, L. A. 2016. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung. *Semin Immunopathol.* 38(4): 517–534.
24. Boxall, C., Holgate, S. T., Davies, D. E. 2006. The contribution of transforming growth factor- β and epidermal growth factor signalling to airway remodelling in chronic asthma. *European Respiratory Journal.* 27(1): 208–229.
25. Brandsma, C.-A. et al. 2017. Lung ageing and COPD: is there a role for ageing in abnormal tissue repair? *Eur Respir Rev.* 26(146): 170073.
26. Brew, K., Nagase, H. 2010. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim. Biophys. Acta.* 1803(1): 55–71.
27. Brozyna, S. et al. 2009. Chemotactic mediators of Th1 T-cell trafficking in smokers and COPD patients. *COPD.* 6(1): 4–16.
28. Brusselle, G. G., Joos, G. F., Bracke, K. R. 2011. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet.* 378(9795): 1015–1026.
29. Budinger, G. S. et al. 2017. The Intersection of Aging Biology and the Pathobiology of Lung Diseases: A Joint NHLBI/NIA Workshop. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 72(11): 1492–1500.
30. Caramori, G. et al. 2016. COPD immunopathology. *Semin Immunopathol.* 38(4): 497–515.
31. Castañeda-Delgado, J. E. et al. 2017. Differences in Cytokine Production during Aging and Its Relationship with Antimicrobial Peptides Production. *Immunol. Invest.* 46(1): 48–58.
32. Castellucci, M. et al. 2015. IL-10 disrupts the Brd4-docking sites to inhibit LPS-induced CXCL8 and TNF- α expression in monocytes: Implications for chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 136(3): 781–791.e9.
33. Cazzola, M., Donner, C.F., Hanania, N.A. 2007. One hundred years of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Respir Med.* 101(6): 1049–1065.
34. Chilosi, M. et al. 2013. Premature lung aging and cellular senescence in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis and COPD/emphysema. *Transl Res.* 162(3): 156–173.
35. Cho, S. J., Stout-Delgado, H. W. 2020. Aging and Lung Disease. *Annu. Rev. Physiol.* 82(1): 433–459.
36. Cho, W. K., Lee, C. G., Kim, L. K. 2019. COPD as a Disease of Immunosenescence. *Yonsei Med. J.* 60(5): 407–413.
37. Chu, E. K. et al. 2006. Induction of the plasminogen activator system by mechanical stimulation of human bronchial epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 35(6): 628–638.
38. Chung, K. F. 2005. The Role of Airway Smooth Muscle in the Pathogenesis of Airway Wall Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2(4): 347–354.
39. Commins, S., Steinke, J. W., Borish, L. 2008. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J. Allergy Clin. Immunol.* 121(5): 1108–1111.

40. Commins, S. P., Borish, L., Steinke, J. W. 2010. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125(2–2): 53–72.
41. Copenhaver, A. M. et al. 2015. IL-1R signaling enables bystander cells to overcome bacterial blockade of host protein synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112(24): 7557–7562.
42. Cortopassi, F., Gurung, P., Pinto-Plata, V. 2017. Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Elderly Patients. *Clin. Geriatr. Med.* 33(4): 539–552.
43. Dhople, V., Krukemeyer, A., Ramamoorthy, A. 2006. The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions. *Biochim. Biophys. Acta.* 1758(9): 1499–1512.
44. Di Stefano, A. et al. 2002. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur. Respir. J.* 20(3): 556–563.
45. Diamond, G. et al. 2000. Transcriptional regulation of beta-defensin gene expression in tracheal epithelial cells. *Infect. Immun.* 68(1): 113–119.
46. Divo, M. J. et al. 2018. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) as a disease of early aging: Evidence from the EpiChron Cohort. *PLoS ONE.* 13(2): e0193143.
47. Dooms, H. 2013. Interleukin-7: Fuel for the autoimmune attack. *J. Autoimmun.* 45: 40–48.
48. van Duin, D. et al. 2007. Age-associated defect in human TLR-1/2 function. *J. Immunol.* 178(2): 970–975.
49. van Eeden, S. F., Terashima, T. 2000. Interleukin 8 (IL-8) and the release of leukocytes from the bone marrow. *Leuk. Lymphoma.* 37(3–4): 259–271.
50. Eickelberg, O. et al. 1999. Extracellular matrix deposition by primary human lung fibroblasts in response to TGF-beta1 and TGF-beta3. *Am. J. Physiol.* 276(5–1): L814–824.
51. Fathy, E.M. et al. 2016. Image-enhanced bronchoscopic evaluation of bronchial mucosal microvasculature in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 11: 2447–2455.
52. Franceschi, C. et al. 2007. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech. Ageing Dev.* 128(1): 92–105.
53. Freund, A. et al. 2010. Inflammatory Networks during Cellular Senescence: Causes and Consequences. *Trends Mol Med.* 16(5): 238–246.
54. Gabryelska, A. et al. 2019. IL-33 Mediated Inflammation in Chronic Respiratory Diseases-Understanding the Role of the Member of IL-1 Superfamily. *Front Immunol.* 10: 692.
55. Gao, J. et al. 2015. Mechanism of Action of IL-7 and Its Potential Applications and Limitations in Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 16(5): 10267–10280.
56. García, J. R. et al. 2001a. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J.* 15(10): 1819–1821.
57. García, J. R. et al. 2001b. Identification of a novel, multifunctional beta-defensin (human beta-defensin 3) with specific antimicrobial activity. Its interaction with plasma membranes of *Xenopus* oocytes and the induction of macrophage chemoattraction. *Cell Tissue Res.* 306(2): 257–264.
58. Garlanda, C., Dinarello, C. A., Mantovani, A. 2013. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity.* 39(6): 1003–1018.

59. Ghanei, M. et al. 2010. Effect of TGF β 1 and TIMP2 on disease activity in asthma and COPD. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 9(2): 79–86.
60. Gibson, G. J. et al. 2013. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur. Respir. J.* 42(3): 559–563.
61. Givi, M. E. et al. 2012. Dendritic cells in pathogenesis of COPD. *Curr. Pharm. Des.* 18(16): 2329–2335.
62. Gosselink, J. V. et al. 2010. Differential expression of tissue repair genes in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 181(12): 1329–1335.
63. Haarmann, H. et al. 2015. The role and regulation of *Moraxella catarrhalis*-induced human beta-defensin 3 expression in human pulmonary epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 467(1): 46–52.
64. Hackett, T.-L. et al. 2014. Fibroblast signal transducer and activator of transcription 4 drives cigarette smoke-induced airway fibrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 51(6): 830–839.
65. Halbert, R. J. et al. 2006. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 28(3): 523–532.
66. Hallstrand, T. S. et al. 2014. Airway epithelial regulation of pulmonary immune homeostasis and inflammation. *Clin. Immunol.* 151(1): 1–15.
67. Hansen, S. et al. 2015. A review of the equine age-related changes in the immune system: comparisons between human and equine aging, with focus on lung-specific immune-aging. *Ageing Res. Rev.* 20: 11–23.
68. Harder, J. et al. 2001. Isolation and characterization of human beta -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J. Biol. Chem.* 276(8): 5707–5713.
69. Hayashi, T. et al. 1996. Immunohistochemical study of metalloproteinases and their tissue inhibitors in the lungs of patients with diffuse alveolar damage and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Pathol.* 149(4): 1241–1256.
70. Herfs, M. et al. 2012. Proinflammatory cytokines induce bronchial hyperplasia and squamous metaplasia in smokers: implications for chronic obstructive pulmonary disease therapy. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 47(1): 67–79.
71. Higaki, M. et al. 2015. Interleukin-10 modulates pulmonary neutrophilic inflammation induced by cigarette smoke exposure. *Exp. Lung Res.* 41(10): 525–534.
72. Hogg, J. C. 2004. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet.* 364(9435): 709–721.
73. Hogg, J. C. et al. 2004. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 350(26): 2645–2653.
74. Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. 1981. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am. J. Clin. Pathol.* 75(6): 816–821.
75. Hulina-Tomašević, A. et al. 2019. Pro-inflammatory effects of extracellular Hsp70 and cigarette smoke in primary airway epithelial cells from COPD patients. *Biochimie.* 156: 47–58.
76. Ito, K., Mercado, N. 2014. STOP accelerating lung aging for the treatment of COPD. *Exp. Gerontol.* 59: 21–27.
77. Iwasaki, A., Medzhitov, R. 2015. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat. Immunol.* 16(4): 343–353.

78. Jarczak, J. et al. 2013. Defensins: natural component of human innate immunity. *Hum. Immunol.* 74(9): 1069–1079.
79. Karakiulakis, G. et al. 2007. Cell type-specific effect of hypoxia and platelet-derived growth factor-BB on extracellular matrix turnover and its consequences for lung remodeling. *J. Biol. Chem.* 282(2): 908–915.
80. Kawano, N. et al. 1997. Expression of gelatinase A, tissue inhibitor of metalloproteinases-2, matrilysin, and trypsin(ogen) in lung neoplasms: An immunohistochemical study. *Human Pathology.* 28(5): 613–622.
81. Kim, V., Criner, G. J. 2013. Chronic Bronchitis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 187(3): 228–237.
82. Kobayashi, S. D., DeLeo, F. R. 2009. Role of neutrophils in innate immunity: a systems biology-level approach. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 1(3): 309–333.
83. Kohut, M.L., Senchina, D.S. 2004. Reversing Age-Associated Immunosenescence via Exercise. *Exercise Immunology Review.* 10: 6–41.
84. Köktürk, N. et al. 2003. The cellular inflammation of bronchial biopsies in chronic obstructive pulmonary diseases. *Tuberk Toraks.* 51(2): 123–131.
85. Kumar, V., Sharma, A. 2010. Mast cells: emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Mol. Immunol.* 48(1–3): 14–25.
86. La Rocca, G. et al. 2007. Cigarette smoke exposure inhibits extracellular MMP-2 (gelatinase A) activity in human lung fibroblasts. *Respir. Res.* 8: 23.
87. Lagente, V. et al. 2005. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 38(10): 1521–1530.
88. Lalley, P. M. 2013. The aging respiratory system--pulmonary structure, function and neural control. *Respir Physiol Neurobiol.* 187(3): 199–210.
89. Lange, P. et al. 2015. Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N. Engl. J. Med.* 373(2): 111–122.
90. Lechapt-Zalcman, E. et al. 2006. Transforming growth factor-beta1 increases airway wound repair via MMP-2 upregulation: a new pathway for epithelial wound repair? *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 290(6): L1277–L1282.
91. Lee, J.E. et al. 2004. The 70 kDa heat shock protein suppresses matrix metalloproteinases in astrocytes. *Neuroreport.* 15(3): 499–502.
92. Lee, K.-H. et al. 2018. Cigarette Smoke Extract Enhances IL-17A-Induced IL-8 Production via Up-Regulation of IL-17R in Human Bronchial Epithelial Cells. *Mol. Cells.* 41(4): 282–289.
93. Lee, N., Shin, M. S., Kang, I. 2012. T-cell biology in aging, with a focus on lung disease. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 67(3): 254–263.
94. Li, A. et al. 2015. IL-22 Up-Regulates β -Defensin-2 Expression in Human Alveolar Epithelium via STAT3 but Not NF- κ B Signaling Pathway. *Inflammation.* 38(3): 1191–1200.
95. Li, J. et al. 2016. System biology analysis of long-term effect and mechanism of Bufeï Yishen on COPD revealed by system pharmacology and 3-omics profiling. *Sci Rep.* 6: 25492.
96. Lillie, R. D., Pizzolato, P., Donaldson, P.T. 1976. Hematoxylin substitutes: a survey of mordant dyes tested and consideration of the relation of their structure to performance as nuclear stains. *Stain Technol.* 51(1): 25–41.
97. Lowery, E. M. et al. 2013. The aging lung. *Clin Interv Aging.* 8: 1489–1496.

98. Luzina, I. G. et al. 2015. The cytokines of pulmonary fibrosis: Much learned, much more to learn. *Cytokine*. 74(1): 88–100.
99. MacNee, W. 2009. Accelerated lung aging: a novel pathogenic mechanism of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Biochem. Soc. Trans.* 37(4): 819–823.
100. MacNee, W. 2016. Is Chronic Obstructive Pulmonary Disease an Accelerated Aging Disease? *Ann Am Thorac Soc.* 13(5): 429–437.
101. Mercado, N., Ito, K., Barnes, P. J. 2015. Accelerated ageing of the lung in COPD: new concepts. *Thorax*. 70(5): 482–489.
102. Milan-Mattos, J. C. et al. 2019. Effects of natural aging and gender on pro-inflammatory markers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 52(9).
103. Miller, T. L. et al. 2008. Dissociation between the effects of oxygen and pressure on matrix metalloproteinase-2, -7, and -9 expression in human airway epithelial cells. *Am J Perinatol*. 25(8): 481–489.
104. Miotto, D. et al. 2003. Interleukin-13 and -4 expression in the central airways of smokers with chronic bronchitis. *Eur. Respir. J.* 22(4): 602–608.
105. Mocchegiani, E. et al. 2009. NK and NKT cells in aging and longevity: role of zinc and metallothioneins. *J. Clin. Immunol.* 29(4): 416–425.
106. Moliva, J. I. et al. 2014. Molecular composition of the alveolar lining fluid in the aging lung. *Age (Dordr)*. 36(3): 9633.
107. Mori, H., Cardiff, R. D. 2016. Methods of Immunohistochemistry and Immunofluorescence: Converting Invisible to Visible. *Methods Mol. Biol.* 1458: 1–12.
108. Mortaz, E., Folkerts, G., Redegeld, F. 2011. Mast cells and COPD. *Pulm Pharmacol Ther.* 24(4): 367–372.
109. Mukaida, N. 2003. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 284(4): L566–577.
110. Nadigel, J. et al. 2013. IL-8 production in response to cigarette smoke is decreased in epithelial cells from COPD patients. *Pulm Pharmacol Ther.* 26(5): 596–602.
111. Nagaoka, I. et al. 2008. Evaluation of the effect of human beta-defensins on neutrophil apoptosis. *Int. Immunol.* 20(4): 543–553.
112. Panda, A. et al. 2010. Age-associated decrease in TLR function in primary human dendritic cells predicts influenza vaccine response. *J. Immunol.* 184(5): 2518–2527.
113. Perotin, J.-M. et al. 2014. Delay of airway epithelial wound repair in COPD is associated with airflow obstruction severity. *Respir. Res.* 15: 151.
114. Pesci, A. et al. 1998. Neutrophils infiltrating bronchial epithelium in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 92(6): 863–870.
115. Pilmane, M., Shine, J., Iismaa, T. P. 1998. Distribution of galanin immunoreactivity in the bronchi of humans with tuberculosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 863: 445–449.
116. Qu, B. et al. 2015. The detection and role of heat shock protein 70 in various nondisease conditions and disease conditions: a literature review. *Cell Stress Chaperones*. 20(6): 885–892.
117. Rabe, K. F. et al. 2007. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 176(6): 532–555.
118. Rennard, S. I. et al. 2007. *Clinical Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. CRC Press, 624p.

119. Rigden, H. M. et al. 2016. Squamous Metaplasia Is Increased in the Bronchial Epithelium of Smokers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *PLoS One*. 11(5).
120. Rohani, M.G., Parks, W.C. 2015. Matrix remodeling by MMPs during wound repair. *Matrix Biol*. 44–46: 113–121.
121. Rohmann, K. et al. 2011. Innate immunity in the human lung: pathogen recognition and lung disease. *Cell Tissue Res*. 343(1): 167–174.
122. Saito, A., Horie, M., Nagase, T. 2018. TGF- β Signaling in Lung Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 19(8).
123. Salvi, S. S., Barnes, P. J. 2009. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet*. 374(9691): 733–743.
124. Sariahmetoglu, M. et al. 2007. Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation. *FASEB J*. 21(10): 2486–2495.
125. Sarir, H. et al. 2008. Cells, mediators and Toll-like receptors in COPD. *Eur. J. Pharmacol*. 585(2–3): 346–353.
126. Scheller, J. et al. 2011. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim. Biophys. Acta*. 1813(5): 878–888.
127. Sharma, G., Hanania, N. A., Shim, Y. M. 2009. The Aging Immune System and Its Relationship to the Development of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc Am Thorac Soc*. 6(7): 573–580.
128. Shaw, A. C. et al. 2010. Aging of the Innate Immune System. *Curr Opin Immunol*. 22(4): 507–513.
129. Shaykhiev, R., Crystal, R. G. 2014. Early events in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Smoking-induced reprogramming of airway epithelial basal progenitor cells. *Ann Am Thorac Soc*. 11 Suppl 5: S252–258.
130. Shibata, S. et al. 2018. Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4-mediated generation of MMP-12-producing macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115(51): 13057–13062.
131. Singh, D. et al. 2010. Sputum neutrophils as a biomarker in COPD: findings from the ECLIPSE study. *Respir. Res*. 11: 77.
132. Solli, A. I. et al. 2013. Tissue- and cell-specific co-localization of intracellular gelatinolytic activity and matrix metalloproteinase 2. *J. Histochem. Cytochem*. 61(6): 444–461.
133. Srivastava, P. K., Dastidar, S. G., Ray, A. 2007. Chronic obstructive pulmonary disease: role of matrix metalloproteases and future challenges of drug therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 16(7): 1069–1078.
134. Stefanini, M., De Martino, C., Zamboni, L. 1967. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature*. 216(5111): 173–174.
135. Stewart, A. G., Thomas, B., Koff, J. 2018. TGF- β : Master regulator of inflammation and fibrosis. *Respirology*. 23(12): 1096–1097.
136. Tang, Y. et al. 2014. The role of the serum IL-33/sST2 axis and inflammatory cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *J. Interferon Cytokine Res*. 34(3): 162–168.
137. Taylor, A. et al. 2007. IL-10 inhibits CD28 and ICOS costimulations of T cells via src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 1. *J. Allergy Clin. Immunol*. 120(1): 76–83.

138. Taylor, J. D. 2010. COPD and the response of the lung to tobacco smoke exposure. *Pulm Pharmacol Ther.* 23(5): 376–383.
139. Tetlow, L. C., Freemont, A. J., Woolley, D. E. 1999. Bronchial cartilage atrophy in chronic bronchitis: observations on chondrolytic processes. *Pathobiology.* 67(4): 196–201.
140. Thannickal, V. J. et al. 2015. Blue Journal Conference. Aging and Susceptibility to Lung Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 191(3): 261.
141. Toapanta, F.R., Ross, T.M. 2009. Impaired immune responses in the lungs of aged mice following influenza infection. *Respir. Res.* 10: 112.
142. Tobin, G. et al. 1990. Peptidergic innervation of the major salivary glands of the ferret. *Peptides.* 11(4): 863–867.
143. Tsan, M.-F., Gao, B. 2004. Heat shock protein and innate immunity. *Cell. Mol. Immunol.* 1(4): 274–279.
144. Turino, G. M. 2007. Proteases in COPD: a critical pathway to injury. *Chest.* 132(6): 1724–1725.
145. Vareille, M. et al. 2011. The airway epithelium: soldier in the fight against respiratory viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 24(1): 210–229.
146. Vogelmeier, C. F. et al. 2017. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report. GOLD Executive Summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 195(5): 557–582.
147. Wang, Y. et al. 2018. Role of inflammatory cells in airway remodeling in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 13: 3341–3348.
148. Wei, B., Sheng Li, C. 2018. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease. *J. Int. Med. Res.* 46(9): 3890–3902.
149. WHO. 2018. *The top 10 causes of death.* World Health Organization. (<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>). Accessed on 18 Jul. 2018.
150. WHO. 2019a. *Chronic obstructive pulmonary disease (COPD).* World Health Organization. ([https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd))). Accessed on 09 Apr. 2019.
151. WHO. 2019b. *World health statistics overview 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals.* Geneva: World Health Organization, WHO/DAD/2019.1, 28p.
152. Winter, J., Wenghoefer, M. 2012. Human Defensins: Potential Tools for Clinical Applications. *Polymers.* 4(1): 691–709.
153. Wu, H. et al. 2014. Interleukin-33/ST2 signaling promotes production of interleukin-6 and interleukin-8 in systemic inflammation in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 450(1): 110–116.
154. Wu, X. et al. 2013. Genotoxicity and reduced heat shock protein 70 in human airway smooth muscle cells exposed to cigarette smoke extract. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. [Med. Sci.].* 33(6): 827–833.
155. Xia, Y. C. et al. 2013. Pro-inflammatory and immunomodulatory functions of airway smooth muscle: emerging concepts. *Pulm Pharmacol Ther.* 26(1): 64–74.

156. Xie, J. et al. 2010. Reduced heat shock protein 70 in airway smooth muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Exp. Lung Res.* 36(4): 219–226.
157. Xu, J. et al. 2002. Matrix metalloproteinase-2 from bronchial epithelial cells induces the proliferation of subepithelial fibroblasts. *Clin. Exp. Allergy.* 32(6): 881–888.
158. Yanagi, S. et al. 2005. Isolation of human beta-defensin-4 in lung tissue and its increase in lower respiratory tract infection. *Respir. Res.* 6: 130.
159. Yanagisawa, H. et al. 2017. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 312(1): L122–L130.
160. Yang, D. et al. 2002. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Immunol.* 23(6): 291–296.
161. Ye, H. et al. 2011. Transforming growth factor- β 1 suppresses the up-regulation of matrix metalloproteinase-2 by lung fibroblasts in response to tumor necrosis factor- α . *Wound Repair and Regeneration.* 19(3): 392–399.
162. Yoshida, T., Tuder, R. M. 2007. Pathobiology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Physiol. Rev.* 87(3): 1047–1082.
163. Zaunders, J. J., Lévy, Y., Seddiki, N. 2014. Exploiting differential expression of the IL-7 receptor on memory T cells to modulate immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 25(4): 391–401.
164. Zeng, Z. et al. 2018. Reduced MBD2 expression enhances airway inflammation in bronchial epithelium in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 13: 703–715.
165. Zhou, L. et al. 2018. Over-expression of nuclear factor- κ B family genes and inflammatory molecules is related to chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 13: 2131–2138.
166. Zhu, J. et al. 2007. Plasma cells and IL-4 in chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175(11): 1125–1133.
167. Zielinski, M. et al. 2018. Influence of Gaseous Pollutants on COPD Exacerbations in Patients with Cardiovascular Comorbidities. *Adv. Exp. Med. Biol.* 86(5): 227–233.
168. Zou, M., Zhang, X., Xu, C. 2016. IL6-induced metastasis modulators p-STAT3, MMP-2 and MMP-9 are targets of 3,3'-diindolylmethane in ovarian cancer cells. *Cell Oncol.* 39(1): 47–57.
169. Zuo, L. et al. 2019. Inflammaging and Oxidative Stress in Human Diseases: From Molecular Mechanisms to Novel Treatments. *Int J Mol Sci.* 20(18): 4472.

PUBLIKĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Zinātniskās publikācijas izdevumos, kas iekļauti starptautiskajās datu bāzēs (*Web of Science*, *SCOPUS*, *ERIH PLUS*) (4)

1. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M. 2017. Inflammatory, anti-inflammatory and regulatory cytokines in relatively healthy lung tissue as an essential part of the local immune system. In: *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký*. Olomouc, Czechoslovakia, 2017 Jun; 161: 2, pp.164–173. PubMed, Scopus.
2. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M. 2018. Age-related lung tissue remodeling due to the local distribution of MMP-2, TIMP-2, TGF- β and Hsp70. *Biotech Histochem*. 2018 Jan; 12: 1–10. PubMed, Scopus.
3. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2019. The evaluation of inflammatory, anti-inflammatory and regulatory factors contributing to the pathogenesis of COPD in airways. *Pathol Res Pract*. 2019 Jan; 215(1): 97–105. PubMed, Scopus.
4. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2019. An insight into COPD morphopathogenesis: chronic inflammation, remodeling, and antimicrobial defense. *Medicina* (Kaunas). 2019 Aug 17; 55(8). pii: E496. PubMed, Scopus.

Zinātniski raksti ārvalstīs izdotos recenzējamās izdevumos (2)

1. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2015. Cytokines and defensins in tissue biopsies obtained by bronchoscopy from patients with post-intubation tracheal stenosis. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 2015 Aug; 10: 8.
2. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2017. COPD affected lung tissue remodeling due to the local distribution of MMP-2, TIMP-2, TGF- β 1 and HSP-70. *Papers on Anthropology*, 2017 Sep; XXVI/2: 157–167.

Uzstāšanās starptautiskās zinātniskās konferencēs (9)

1. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2015. Local expression of interleukins in relatively normal lung tissue. *The 8th Baltic Morphology Conference: Interdisciplinary Nature of Contemporary Morphology* [Viļņa, Lietuva, 2015]. Tēžu grāmata, 69. lpp. (Mutisks ziņojums)

2. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M. 2016. The appearance and distribution of inflammatory, anti-inflammatory and regulatory interleukins in relatively healthy lung tissue. *ERS International Congress* [Londona, Lielbritānija, 2016]. *European Respiratory Journal*, 2016 Sept.;48(Suppl. 60), abstr. No. PA1830. (Stenda referāts)
3. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniseva, A. 2017. Inflammatory, anti-inflammatory and regulatory cytokines IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-7, IL-8 and IL-10 in COPD affected lung tissue. *XXV International Symposium on Morphological Sciences* [Siaņa, Ķīna, 2017]. *Annals of Anatomy*. Elsevier, pp. 56–57. (Mutisks ziņojums)
4. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniseva, A. 2017. COPD affected lung tissue remodeling due to the local distribution of MMP-2, TIMP-2, TGF- β 1 and Hsp-70. *The 9th Baltic Morphology Conference* [Tartu, Igaunija, 2017]. Tēžu grāmata, 97. lpp. (Mutisks ziņojums)
5. Pilmane, M., **Vitenberga, Z.** 2018. Characterization of lung tissue of newborns with bronchopulmonary dysplasia (BPD). *8th International conference of UENPS* [Buhareste, Rumānija, 2018]. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*, 2018: 7(2). (Stenda referāts)
6. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniseva, A. 2018. Tumor necrosis factor alpha and interleukins IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, and IL-12 with complex inflammatory, anti-inflammatory and regulatory functions are contributing to the pathogenesis of COPD in lung airways. *Cytokines 2018 (6th Annual Meeting of the International Cytokine & Interferon Society (ICIS))*. [Bostona, ASV, 2018]. Tēžu grāmata, 122. lpp. (Stenda referāts)
7. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2018. The evaluation of local antimicrobial peptides and immunity regulating cytokines in COPD affected lung. *Autumn Immunology Conference 2018 (AIC2018)* [Čikāga, ASV, 2018]. Tēžu grāmata, 60. lpp. (Mutisks ziņojums un stenda referāts)
8. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa A., 2019. Insight into COPD morphopathogenesis: chronic inflammation, tissue remodeling, and antimicrobial defense. *Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge for Use in Practice* [Rīga, Latvija, 2019]. Tēžu grāmata, 567. lpp. (Mutisks ziņojums)
9. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2019. Chronic inflammation, remodeling and antimicrobial defense aspects of COPD morphopathogenesis. *10th Scientific Conference Baltic Morphology* [Lietuva, Kauņa, 2019]. Tēžu grāmata, 567. lpp. (Mutisks ziņojums)

Uzstāšanās vietējas nozīmes zinātniskās konferencēs (5)

1. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2015. Bronhoskopiski iegūtu audu morfoloģiskā un imūnhistoķīmiskā analīze pacientiem ar pēcintubācijas trahejas stenozi. *Rīgas Stradiņa universitātes 2015. gada Zinātniskā konference: Tēzes*, 110. lpp. (Stenda referāts)
2. Pilmane, M., **Vitenberga, Z.** 2016. Tipiskas un netipiskas audu reakcijas ar dažādām plaušu anomālijām un iekaisumu sirgstošu jaundzimušo plaušās. *Rīgas Stradiņa universitātes 2016. gada Zinātniskā konference: Tēzes*, 147. lpp. (Stenda referāts)
3. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2016. Iekaisuma, pretiekaisuma un regulējošo interleikīnu ekspresija relatīvi veselu Latvijas iedzīvotāju plaušu audos. *Rīgas Stradiņa universitātes 2016. gada Zinātniskā konference: Tēzes*, 53. lpp. (Mutisks ziņojums)
4. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2017. Iekaisuma, pretiekaisuma un regulējošo interleikīnu izvērtējums HOPS skartos plaušu audos. *Rīgas Stradiņa universitātes 2017. gada Zinātniskā konference: Tēzes*, 93. lpp. (Mutisks ziņojums)
5. **Vitenberga, Z.**, Pilmane, M., Babjoniševa, A. 2018. Iekaisuma procesu raksturojošu citokīnu novērtējums pacientiem ar hroniski obstruktīvu plaušu slimību. *Rīgas Stradiņa universitātes 2018. gada Zinātniskā konference: Tēzes*, 152. lpp. (Mutisks ziņojums)

PATEICĪBAS

Vēlos izteikt vislielāko pateicību mana promocijas darba vadītājai *Dr. habil. med.* profesorei Mārai Pilmanei par iedrošinājumu, palīdzību, ieguldīto laiku un pūlēm, nenogurstošu pacietību un atbalstu doktorantūras studiju laikā, promocijas darba tapšanā un sperot pirmos soļus zinātnē. Īpaši pateicos par promocijas darbam atvēlēto un uzticēto vēsturiskās kolekcijas plaušu audu materiālu. Pateicos arī par motivāciju, sirsnību, uzticību un profesionālo virzību.

Īpaši pateicos *Dr. med.* Aurikai Babjoniševai par sniegtajām zināšanām, atbalstu, palīdzību pētījuma audu materiāla ieguvē un vērtīgajiem padomiem.

Pateicos arī promocijas padomes priekšsēdētājam un locekļiem, oficiālajiem recenzentiem, promocijas darba pirmās apspriešanas komisijas dalībniekiem un organizētājiem par promocijas darba izvērtēšanu un sniegtajiem ieteikumiem, kā arī ieguldīto darbu un laiku.

Vēlos izteikt lielu pateicību RSU AAI darbiniekiem – gan esošajiem, gan bijušajiem – par atbalstu un uzmundrinājumiem, īpaši laborantēm Natālijai Morozai un Maijai Urtānei par palīdzību histoloģisko preparātu sagatavošanā, kā arī RSU AAI inženieriem par palīdzību mikrofotogrāfiju sagatavošanā.

Pateicos *Alma mater* Rīgas Stradiņa universitātei par doto iespēju realizēt doktorantūras studijas un promocijas darbu, Doktorantūras nodaļai par atbalstu, atsaucību un palīdzību doktorantūras studiju laikā un promocijas darba virzībā uz aizstāvēšanu, Statistikas laboratorijai par sniegto palīdzību statistisko metožu apguvē, Izdevniecības un poligrāfijas nodaļas darbiniekiem par padomiem promocijas darba un kopsavilkumu tehniskajā noformēšanā.

Visbeidzot sirsnīgi pateicos ģimenei par nenovērtējamu atbalstu, izturību, sapratni un rūpēm, īpaši vīram Artūram, kā arī visiem citiem, kas bija līdzās.