

Rīgas Stradiņa universitāte
Medicīnas fakultāte
Akadēmiskā maģistra studiju programma
„Biomedicīna”

MAGISTRA DARBS

**“Akūtas aerobas slodzes ietekme uz seruma miokīnu IL-6 un
M-CSF koncentrāciju krūts vēža pacientēm”**

Darba autors:

Laura Zača

Studenta apliecības Nr. 038528

Darba vadītājs:

Dace Reihmane

Dr. biol. Asociētā profesore, vadošā pētniece

RSU Sporta un uztura izpētes laboratorija

Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedra

Rīga, 2025

Kopsavilkums

Šī darba mērķis bija novērtēt, kā akūta aeroba fiziskā slodze ietekmē miokīnu IL-6 un M-CSF koncentrāciju krūts vēža pacientēm, un vai šīs izmaiņas atšķiras pirms un pēc terapijas kursa.

Pētījumā piedalījās 43 sievietes ar krūts vēzi, kurām asins paraugi tika ievākti gan pirms, gan pēc akūtas aerobas slodzes divos laika punktos – pirms terapijas un pēc tā. Imūnanalīzes tika veiktas ar Luminex® xMAP® daudzfaktoru analīzes tehnoloģiju.

Pirms terapijas akūtas slodzes rezultātā IL-6 koncentrācija palielinājās no 3.25 pg/ml (IQR: 1.85–4.63) līdz 4.45 pg/ml (IQR: 2.90–5.74), ($p = 0.015$), bet pēc terapijas izmaiņas no 3.70 pg/ml (IQR: 2.78–5.66) līdz 3.73 pg/ml (IQR: 2.91–6.01) nebija statistiski nozīmīgas ($p > 0.05$). Savukārt akūtas slodzes inducētas M-CSF koncentrācijas izmaiņas bija statistiski nozīmīgas pirms terapijas 182.90 pg/ml (IQR: 121.83–265.83) vs. 192.75 pg/ml (IQR: 129.93–282.45), bet pēc terapijas rādījumu samazinājās 205.20 pg/ml (IQR: 132.88–395.00) vs. 183.80 pg/ml (IQR: 111.73–355.13).

Starp akūtas slodzes inducētām Δ IL-6 un Δ M-CSF koncentrācijām tika novērota statistiski ticama pozitīva korelācija ($\rho = 0.644$, $p = 0.0129$), kā arī spēcīga korelācija starp šo biomarkieru absolūtajām vērtībām visos laika punktos. IL-6 ir robusts slodzes inducēts miokīns, kas potenciāli var tikt izmantots kā biomarkieris personalizētās fiziskās rehabilitācijas uzraudzībā krūts vēža pacientēm. M-CSF gadījumā nepieciešami padziļināti pētījumi ar lielāku dalībnieku skaitu, lai precizētu tā lomu onkoloģiskās ārstēšanas kontekstā.

Šī pētījuma novitāte ir tajā, ka tas ir viens no pirmajiem Latvijā, kur vienlaikus tiek vērtēta gan IL-6, gan M-CSF dinamika atbildes reakcijā uz slodzi, izmantojot reālas pacientu grupas pirms un pēc vēža terapijas, tādējādi sniedzot priekšstatu par iespējamiem bioloģiskajiem mehānismiem, kas varētu tikt iekļauti nākotnes multidisciplinārās ārstēšanas un rehabilitācijas pieejās.

Atslēgvārdi: krūts vēzis, IL-6, M-CSF, miokīni, fiziskā slodze

Summary

The aim of this study was to evaluate how acute aerobic physical exercise affects the concentration of myokines IL-6 and M-CSF in breast cancer patients, and whether these changes differ before and after the course of therapy.

The study involved 43 women with breast cancer, from whom blood samples were collected both before and after acute aerobic exercise at two time points – before therapy and after it. Immunoassays were performed using Luminex® xMAP® multiplex analysis technology.

Before therapy, IL-6 concentration increased from 3.25 pg/ml (IQR: 1.85–4.63) to 4.45 pg/ml (IQR: 2.90–5.74), ($p = 0.015$), whereas after therapy, the change from 3.70 pg/ml (IQR: 2.78–5.66) to 3.73 pg/ml (IQR: 2.91–6.01) was not statistically significant ($p > 0.05$). M-CSF concentration before therapy increased statistically significant from 182.90 pg/ml (IQR: 121.83–265.83) to 192.75 pg/ml (IQR: 129.93–282.45), ($p > 0.05$), while after therapy it decreased from 205.20 pg/ml (IQR: 132.88–395.00) to 183.80 pg/ml (IQR: 111.73–355.13).

As a result of acute exercise, a statistically significant positive correlation was observed between Δ IL-6 and Δ M-CSF ($\rho = 0.644$, $p = 0.0129$), as well as a strong correlation between the absolute values of these biomarkers at all time points. IL-6 is a reliable exercise-induced myokine whose changes may serve as a basis for future research into its use as a biomarker for monitoring personalized physical rehabilitation in breast cancer patients. In the case of M-CSF, more in-depth studies with larger participant numbers are required to clarify its role in the context of oncological treatment.

The novelty of this study lies in the fact that it is one of the first in Latvia to simultaneously evaluate the dynamics of both IL-6 and M-CSF in response to exercise, using real patient groups before and after cancer therapy, thereby providing insight into possible biological mechanisms that could be included in future multidisciplinary treatment and rehabilitation approaches.

Keywords: breast cancer, IL-6, M-CSF, myokines, physical exercise

Satura rādītājs

Kopsavilkums.....	2
Summary.....	3
Satura rādītājs.....	4
Ievads.....	5
1. Literatūras apskats.....	7
1.1. Krūts vēzis – vispasaules problēma.....	7
1.1.1. Krūts vēzis un tā izraisītājfaktori	7
1.1.2. Krūts vēža klasifikācija.....	8
1.2. Fiziskās aktivitātes un to ietekme uz imūnsistēmu krūts vēža pacientēm.....	11
1.3. Miokīni un to loma organismā.....	12
1.4. IL-6 loma kā biomarķieris krūts vēzim	14
1.5. M-CSF loma kā biomarķierim krūts vēzim.....	16
2. Materiāli un metodes	18
2.1. Pētījuma dalībnieki.....	18
2.2. Ķermeņu uzbūves dati un asins paraugu analīzes	18
2.3. Slodžu testi	19
2.3.1. Akūtās aerobas slodzes tests.....	19
2.3.2. Sešu minūšu iešanas tests	19
2.3.3. Sēdus-stāvus tests	20
2.4. Imunoloģiskā analīze	20
2.5. Datu apstrāde un analīze	22
3. Rezultāti.....	23
3.1. Aprakstošā statistika.....	23
3.2. Fizisko veiktspējas izmaiņas rezultāti.....	26
3.3. Akūtas slodzes ietekme uz biomarķieru koncentrāciju	32
3.3.1. IL-6 un M-CSF koncentrāciju izmaiņas.....	32
3.3.2. IL-6 un M-CSF analīze atkarībā no ķermeņu masas indeksa.....	36
3.3.3. IL-6 un M-CSF analīze atkarībā no diagnozes apakštipa.....	38
3.4. Korelācijas analīze	41
4. Diskusija.....	44
5. Secinājumi.....	47
6. Literatūras saraksts.....	48
Pielikums.....	54

Ievads

Krūts vēzis ir viena no izplatītākajām onkoloģiskajām saslimšanām sievietēm. Pēc pēdējiem Pasaules Veselības Organizācijas datiem 2022. gadā ar krūts vēzi tika diagnosticētas vairāk nekā 2,3 miljoni sieviešu, kā arī krūts vēža dēļ tika konstatētas vairāk kā 600 000 nāves gadījumu.[1] Pēc Slimības profilakses un kontroles centra datiem Latvijā 2022. gadā krūts vēzis tika atklāts aptuveni 1 200 sievietēm. Jaunatklāto gadījumu skaita tendences Latvijā tāpat kā pasaulē katru gadu turpina pieaugt.[2] Šī statistika ar augsto saslimstības līmeni aktualizē nepieciešamību izstrādāt jaunas efektīvākas ārstēšanas un rehabilitācijas metodes, kā arī izpratni par krūts vēža šūnu attīstību, tādā veidā atklājot, kā varētu samazināt krūts vēža šūnu proliferāciju.

Jaunākie pētījumi liecina, ka fiziskajai aktivitātei ir būtiska ietekme uz onkoloģisko pacientu veselību, tai skaitā uz imūnās sistēmas darbību un iekaisuma procesu regulāciju.[15;16]

Miokīni ir fiziskās aktivitātes inducēti citokīni, kuriem ir būtiska loma šūnu vielmaiņā, imūnās atbildes regulācijā un audzēju mikrovides modulācijā. Starp tiem īpaša uzmanība tiek pievērsta interleikīnam-6 (turpmāk tekstā – IL-6) un makrofāgu koloniju stimulējošajam faktoram (turpmāk tekstā – M-CSF), kuri var gan veicināt, gan kavēt audzēju attīstību atkarībā no to koncentrācijas un darbības mehānismiem.[17;18] Pētījumi liecina, ka fiziskās slodzes laikā IL-6 koncentrācija serumā var palielināties līdz pat 100 reizēm, bet M-CSF loma šajos procesos vēl nav pilnībā izpētīta.[23;24]

Šī pētījuma aktualitāte izriet no nepieciešamības pēc padziļinātas izpratnes par fiziskās aktivitātes ietekmi uz miokīnu regulācijas mehānismiem krūts vēža pacientēm. Lai gan daudzi pētījumi ir parādījuši fiziskās slodzes pozitīvo ietekmi uz vēža pacientu dzīves kvalitāti un ārstēšanas efektivitāti, joprojām trūkst datu par konkrētu miokīnu, piemēram, IL-6 un M-CSF, dinamiku terapijas laikā.[18;25] Pētījuma rezultāti var sniegt jaunas atziņas par personalizētām ārstēšanas un rehabilitācijas iespējām krūts vēža pacientēm.

Pētījuma hipotēze:

Akūta aeroba slodze būtiski palielina miokīnu IL-6 un M-CSF koncentrāciju krūts vēža pacientēm.

Pētījuma mērķis:

Noskaidrot, kā akūta aeroba slodze ietekmē miokīnu IL-6 un M-CSF koncentrāciju krūts vēža pacientēm, un vai šī atbildes reakcija ir mainīga pirms un pēc terapijas.

Pētījuma uzdevumi:

1. Noteikt asins serumā IL-6 un M-CSF koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc akūtas aerobas slodzes krūts vēža pacientēm.
2. Analizēt iegūtos datus un novērtēt, kā fiziskā slodze ietekmē miokīnu izdalīšanos pirms un pēc terapijas
3. Noteikt, vai krūts vēža pacienšu ķermeņa masas indekss ietekmē miokīnu izdalīšanos pirms un pēc akūtas aerobas slodzes testa.
4. Noteikt, vai krūts vēža pacienšu molekulārā apakštipa diagnoze ietekmē miokīnu izdalīšanos pirms un pēc akūtas aerobas slodzes testa.
5. Noteikt, iespējamo korelāciju savstarpēji starp biomarkieru izdalīšanās koncentrācijām.
6. Noteikt, iespējamās korelācijas fiziskās veiktspējas testa rezultātiem ar ķermeņa masas indeksu.

Pētījuma metodoloģija un ierobežojumi:

Pētījumā tiks izmantota eksperimentālā metode, lai analizētu miokīnu IL-6 un M-CSF koncentrācijas izmaiņas krūts vēža pacientēm pirms un pēc akūtas aerobas slodzes. Dalībnieki tiks pakļauti standartizētam aerobas slodzes protokolam, pēc kura tiks veikta asins paraugu analīze ar laboratoriskām metodēm. Iegūtie dati tiks apstrādāti, izmantojot statistiskās analīzes metodes, lai identificētu iespējamās korelācijas starp fizisko aktivitāti un miokīnu līmeni.

Ņemot vērā maģistra darba ierobežoto apjomu, pētījums koncentrēsies tikai uz noteiktu miokīnu analīzi un to izmaiņām īslaicīgas aerobas slodzes ietekmē. Darba ietvaros netiks analizētas ilgtermiņa fiziskās aktivitātes ietekmes uz miokīnu līmeni vai šo biomarkieru saistība ar klīniskajiem iznākumiem.

Tā kā maģistra darbs ir izstrādāts, kā turpinājums RSU pētījumam “Fiziskās aktivitātes, kā sekundārā krūts vēža prevencijas līdzeklis: molekulo mehanismu longitudināls pētījums”, tad paraugu skaits analīzei bija limitēts. Tika izmantoti asins plazmas paraugi, kas bija palikuši vēl neizmantoti.

1. Literatūras apskats

1.1. Krūts vēzis – vispasaules problēma

Krūts vēzis ir visbiežāk sastopamā onkoloģiskā slimība sievietēm visā pasaulē. Saskaņā ar Pasaules Veselības organizācijas (WHO) datiem 2022. gadā tika reģistrēti vairāk nekā 2,3 miljoni jaunu krūts vēža gadījumu, kas veido aptuveni 12% no visiem vēža saslimšanas gadījumiem. Kā arī Eiropā krūts vēzis ir galvenais nāves iemesls sievietēm vecumā no 35 līdz 65 gadiem. Eiropā krūts vēža sastopamība ir augstāka kā citur, īpaši attīstītajās valstīs, kur regulāri tiek veikti skrīninga izmeklējumi un uzlabotas diagnostikas metodes šī vēža savlaicīgai atklāšanai.[1] Latvijā, saskaņā ar Slimību profilakses un kontroles centra (SPKC) datiem, 2022. gadā tika reģistrēti aptuveni 1 200 jauni krūts vēža gadījumi, kas veido apmēram 16% no visiem ļaundabīgo audzēju gadījumiem sievietēm, rezultējoties kā visizplatītākais ļaundabīgais audzējs sievietēm valstī. Neskatoties uz diagnostikas uzlabošanos, mirstības rādītāji joprojām ir augsti, īpaši gadījumos, kad slimība tiek atklāta vēlīnās stadijās. Agrīna diagnostika būtiski ietekmē pacientu izdzīvošanas rādītājus – piecu gadu izdzīvošanas rādītāji agrīni diagnosticēta krūts vēža gadījumā ir apmēram 90%, savukārt vēlīni atklātā slimībā (III-IV stadijā) tie samazinās līdz 20-30%.[3]

1.1.1. Krūts vēzis un tā izraisītāji faktori

Krūts vēža attīstība ir saistīta ar dažādiem riska faktoriem, tostarp ģenētiskajiem, hormonālajiem un dzīvesveida faktoriem. Galvenais riska faktors, kas tiek apskatīts ir ģenētiskais faktors – BRCA1 (*Breast Cancer gene 1*) un BRCA2 (*Breast Cancer gene 2*) gēnu mutācija. Šie gēni atbild par olbaltumvielu ražošanu, kas palīdz atjaunot bojāto DNS. Vairumā gadījumu sievietes, kuras manto no viena vecāka patogēno BRCA1 vai BRCA2 gēnu, ir normāla otra gēna kopija, kas mantota no otra vecāka. Ar vienu normālu gēna kopiju ir pietiekami, lai tas varētu veikt pareizu olbaltumvielu ražošanu un aizsargātu šūnas no vēža veidošanās. Taču dzīves laikā var notikt somatiskās izmaiņas gēnos, kas var likt aktivēties patogēnajai gēnu kopijai. Sievietēm ar BRCA1 mutāciju dzīves laikā krūts vēža attīstības risks ir 55-72%, savukārt ar BRCA2 gēnu mutāciju risks ir 45-69%. Salīdzinājumam, sievietēm bez šo mutāciju klātbūtnes krūts vēža attīstības risks ir apmēram 13% viņu dzīves laikā jeb tas ir 1 no 8 sievietēm var kļūt par krūts vēža slimnieci.[4] Kā otrs izplatītākais riska faktors krūts vēža attīstībai ir hormonālie faktori. Sievietēm, kurām menstruācija sākas agrīni jeb pirmās menstruācijas notika pirms 12 gadu vecuma, krūts vēža risks palielinās salīdzinājumā ar

sievietēm, kurām menstruācijas sākas 13 gadu vecumā vai vēlāk. Tāpat vēla menopauze (pēc 55 gadu vecuma) palielina risku krūts vēža attīstībai. Kā būtisks krūts vēža riska faktors ir arī dzīvesveida izmaiņas – mazkustīgs dzīvesveids, aptaukošanās, pārmērīga alkohola lietošana un smēķēšanai ir korelācijas ar paaugstinātu risku krūts vēža attīstībai.[6]

Krūts vēža patoģenēzē būtiska loma ir ļaundabīgu šūnu nekontrolētai proliferācijai, kas noved pie normālas audu bojāejas un audzēja progresijas. Šo nelabvēlīgo šūnu attīstību ietekmē gēnu mutācijas. Pētījumi liecina, ka galvenās mutācijas, kas saistītas ar krūts vēža patoģenēzi, ir BRCA1 un BRCA2 mutācijas, kura rezultātā tiek zaudēta iespēja veidoties DNS atjaunošanas proteīniem, padarot šūnas neaizsargātas pret DNS bojājumiem, kas var novest pie vēža attīstības. Tāpatās arī audēja proteīna p53 (turpmāk tekstā – TP53) gēna mutācijas var veicināt krūts vēža attīstību. Šis gēns ir atbildīgs par proteīna p53 sintēzi, kas tiek izmantots dažādos mehānismos šūnu apoptozes ceļiem, genoma stabilitātei. TP53 var apturēt šūnas augšanu cikla G1/S punktā, ja ir radušies kādi DNS bojājumi vai arī ierosināt apoptozi, ja DNS bojājumi ir nelabojami. Notiekot gēna TP53 mutācijai, tiek izmainīts p53 proteīns vai arī tas netiek sintezēts, rezultātā tiek bloķēta šūnu dabiskā apoptoze, ļaujot vēža šūnām izdzīvot un attīstīties tālāk. Krūts vēža attīstību ietekmē arī cilvēka epidermas augšanas faktora receptora 2 (turpmāk tekstā - HER2) gēns, kas veido HER2 membrānas proteīnu, darbojoties kā tirozīna kināze jeb receptors krūts šūnām. HER2 palīdz kontrolēt krūts šūnu augšanu, dalīšanos, atjaunošanos. Ja HER2 ir pārmērīgi ekspresēts un aktivizēts, tas nodrošina krūts šūnas ar nekontrolētu proliferāciju, papildus anti-apoptozes signāliem. HER2 pārmērīga ekspresija ir novērojama apmēram 20% krūts vēža gadījumos.[7;8]

1.1.2.Krūts vēža klasifikācija

Histoloģiski un molekulāri krūts vēzis tiek klasificēts vairākos veidos, un katram no tiem ir atšķirīgas klīniskās īpašības, patoģenēzes kaskāde. Pēc jaunākā Pasaules Veselības Organizācija publicētā krūts vēža histoloģiskās klasifikācijas saraksta, krūts vēzi histoloģiski var sadalīt 44 apakškategorijs, kas ir visas aprakstītas 2019. gadā izdotajā izdevumā. Šajā klasifikatorā izdala katra histoloģiskā pazīmju vēža veidu atsevišķi, balstoties uz histoloģisko tipēšanu. Ja visas apakšgrupas apvieno kopējās grupās, tad tās varētu iedalīt – *in situ* karcinomā vai invazīvās karcinomās. *In situ* krūts vēzis nozīmē, ka krūts vēža šūnas atrodas konkrētā krūts anatomiskajā daļā un nav ieaugušas pārējos audos, respektīvi atipiskās polimorfās šūnas necaurog bazālo (ārējo) membrānu. Izšķir divus pamatgrupas *in situ* krūts vēža veidus – kanāla karcinoma un lobulāro, dažkārt arī saukta par daiviņu, neinvazīvās karcinomas, kas parasti ir sākuma stadijas karcinomai. Invazīvā karcinoma tips ietver sevī lielāko daļu no krūts

vēža histoloģiskajām apakšgrupām, kā, piemēram, invazīvā duktālā, invazīvā lobulārā, medulārā, papilārā, gļotādas, adenoīdā cistiskā karcinoma un daudzas citas.[5]

Visizplatītākais histoloģiskās kategorijas krūts vēzis ir invazīvā duktālālā karcinoma (turpmāk tekstā - IDC), kas tiek novērots 70-75%, dažos avotos līdz pat 80% gadījumos. Šis vēža veids attīstās no piena vadu epitēlija šūnām un izplatās apkārtējos audos. Biežs novērojums šim vēža tipam ir audzēju šūnu ieaugšana sinusa tipa limfvados, perineirālu vai vaskulāru invāziju veidā. Otrais biežākais krūts vēža tips pēc histoloģijas veida ir invazīvā lobulārā karcinoma (turpmāk tekstā - ILC), kas veido apmēram 5-15% no visiem gadījumiem. Tas attīstās no piena dziedzeru daiviņu šūnām un nereti izplatās difūzā veidā, padarot to grūtāk diagnosticējamu ar tradicionālajām attēldiagnostikas metodēm agrīnajās stadijās. ILC parasti aug lēnāk nekā IDC, taču tam ir lielāka tendence uz multifaktoriālu augšanu, iesaistot abu krūšu audus. ILC, salīdzinot ar IDC biežāk veido metastāzes galvas smadzeņu apvalkos, vēderplēvē, kaulos un gremošanas sistēmā, kamēr IDC metastāzē pārsvarā plaušās, aknās.[7]

Vel viena plaši pieņemta krūts vēža klasifikācija ir no imūnhistoķīmiskā viedokļa, pamatojoties uz šūnu hormonu – estrogēna, progesterona un HER2 receptoru ekspresiju. Attiecīgi šajā klasifikatorā izdala četrus krūts vēža apakštipus – lumināls A, lumināls B, HER2 pozitīvs un trīskārši negatīvs krūts vēzis (turpmāk tekstā – TNBC).[8]

Luminal A un Luminal B ir hormonu receptoru pozitīva krūts vēža apakštips. Tas nozīmē, ka kāds no hormonu receptoriem – estrogēna vai progesterona receptoriem ir ekspresēts pastiprināti. Luminal A krūts vēzis ir visbiežākais imunohistoķīmiskā vēža veids, apmēram 50% gadījumos, šim vēzim ir raksturīga estrogēna receptoru ekspresija, kam retos gadījumos var pievienoties paaugstināta progesterona receptoru ekspresija. Šajā vēža tipā nav izteikta HER2 aktivitāte, tāpēc arī ir zema šūnu proliferācijas marķiera Ki-67 ekspresija, kas parasti ir mazāks par 20%. Klīniski Luminal A vēža veids ir lēni augošs un tam ir vislabākā prognoze uz izārstēšanos ar mazāku recidīvu biežumu un augstāku izdzīvošanas līmeni. Šī karcinoma rada augstu atbildes reakciju uz hormonterapiju, piemēram, tamoksifēna, lietošanas gadījumā. Pēc 2016. gada veiktā pētījuma piecu gadu izdzīvošanas rādītājs luminālā A krūts vēža gadījumā ir apmēram 95%.[8;9;12].

Luminal B karcinomai ir pozitīva gan estrogēna, gan pārsvarā arī progesterona receptora ekspresija, bet nav HER2 aktivācija novērojama. Salīdzinoši ar luminal A veidu, šim vēža veida ir augstāka Ki-67 ekspresija, kas ir virs 20%. Šim krūts vēža tipam ir iespējama BRCA2 gēna mutācijas novērošana. Tas nozīmē, ka šim audzējam ir augstāka proliferācijas pakāpe, lielāks risks uz recidīviem un sliktāka prognoze salīdzinājumā ar luminal A vēža tipu. No visiem krūts vēža gadījumiem šis tips ir novērojams 15% gadījumu. Tā kā šis vēža veids ir agresīvāks nekā

iepriekšējais apskatītais, terapija var sastāvēt gan no hormonu aizstājterapijas, gan smagākos gadījumos tiek nozīmēta arī ķīmijterapija.[8;10]

HER2 pozitīvā krūts vēzis veido 15-20% no visiem gadījumiem. Tam ir raksturīga augsta HER2 ekspresija bez estrogēna vai progesterona receptoru ekspresijas, taču ir gadījumi, kad tiek novērota arī hormonu receptoru paaugstināta ekspresija. Tāpat šim krūts vēzim ir novērojama p53 proteīna ekspresija, kas vēl vairāk palielina marķiera Ki-67 koncentrāciju krūts audu šūnās, kas var sasniegt pat pāri 30% Ki-67 marķiera indeksu. Visi šie aspekti norāda, ka HER2 krūts vēzis ir agresīvāks, straujāk augošs nekā luminālie krūts vēža tipi ar sliktāku prognozi un lielāku recidīvu risku. Terapija šādam krūts vēzim ietver gan ķirurģisku iejaukšanos, kas var būt gan lumpektomija, kad tiek izņemti audzēja audi saglabājot krūtis, vai mastektomija, kas ir pilnīga krūts noņemšana, gan ķīmijterapija, kas ir vērsta pret HER2 proteīnu, piemēram, trastuzumabu, ko var kombinēt kopā ar tirozīna kināzes inhibitoriem – lapatinibu vai neratinibu. Ja pacientam ar HER2 krūts vēža tipu ir paaugstināti ekspresēti hormonu receptori, papildus tiek pievienota arī hormonu terapija, tāda pati kā ir luminālu krūts vēžu gadījumā.[8;13].

Kā smagākā un agresīvākā imunohistoķīmiskās klasifikācijas vēža forma ir TNBC, un tas veido aptuveni 15-20% no visiem krūts vēža gadījumiem. Tas ir visizplatītākais vēža variants sievietēm, kuras jaunākas par 40 gadiem un afroamerikāņu sievietēm. Visiem TNBC apakštipiem ir kopīgs gēnu ekspresijas modelis – estrogēna un progesterona receptoru, kā arī HER2 ekspresijas trūkums. Neskatoties uz šīm kopīgajām iezīmēm, TNBC ir neviendabīgas formas vēzis, ko var iedalīt vēl sešās apakšgrupās, atbilstoši klīniskajam, histopatoloģiskajam profilam. Šim vēža veidam ir izteikta BRCA1 gēnu mutācija, kam smagākos gadījumos var būt arī BRCA2 un TP53 gēnu mutācija. TNBC raksturo tā agresivitāte, agrīns recidīvs un lielāka tendence parādīties progresējošās stadijās. Tam ir augsts proliferācijas ātrums, izmaiņas DNS gēnos un palielināta genoma nestabilitāte. Histoloģiski tas ir slikti diferencēts, ļoti proliferatīvs un neviendabīgs audzējs. Tā kā šis vēža tips nav jutīgs pret hormonālo un mērķterapiju, standarta ārstēšana ietver ķīmijterapiju vai eksperimentālo terapiju. Pēc 2018. gadā publicētā apskata TNBC ietver recidīvu maksimumu no viena līdz trim gadiem pēc diagnozes noteikšanas (Riska attiecība = 2,6; $P < 0,0001$), kā arī lielāko daļu nāves gadījumu piecu gadu laikā pēc diagnosticēšanas un terapijas uzsākšanas. ($RR = 3,2$; $P < 0,0001$), salīdzinot ar citiem krūts vēža tipiem. Vidējā dzīvildze pacientiem, kuriem diagnosticēts metastātiskais (IV stadijas) TNBC ir aptuveni viens līdz divi gadi.[8;14]

Histoloģiskais un imunohistoķīmiskais krūts vēža iedalījums ir svarīgs aspekts, jo tas nosaka individuāli katra pacienta terapijas veidu. Ārstēšanas metodes un tālākā rehabilitācija iekļauj sevī metodes, kā ķirurģija, piemēram lumpektomija vai mastektomija, staru terapiju, kas

tiek izmantota, lai samazinātu lokālā recidīva risku, ķīmijterapiju – sistemātiska ārstēšana, kas tiek pielietota agresīvākos vai metastātiskā vēža gadījumos, hormonālā terapija – estrogēna un/ vai progesterona receptoru pozitīvajiem audzējiem, lai bloķētu hormonu ietekmi uz vēža šūnām, mērķterapiju – HER2 vēža tipa pacientiem, lai samazinātu konkrētā receptora ekspresiju. Rehabilitācija ietver fizisko aktivitāšu programmas, fizioterapiju un psihosociālo atbalstu. Pētījumi liecina, ka regulāra fiziskā aktivitāte var mazināt nogurumu un uzlabot dzīves kvalitāti krūts vēža pacientēm.[8;14]

1.2. Fiziskās aktivitātes un to ietekme uz imūnsistēmu krūts vēža pacientēm

Fiziskās aktivitātes, īpaši aerobās slodzes, ir būtisks faktors, kas ietekmē cilvēka veselību un imūnās sistēmas darbību. Aeroba slodze tiek definēta kā jebkura ilgstoša fiziskā aktivitāte, kuras laikā tiek izmantots skābeklis enerģijas ražošanai. Pie aerobās slodzes veidiem pieder skriešana, soļošana, ritenbraukšana, peldēšana un citi izturības sporta veidi. Šāda veida fiziskās aktivitātes veicina sirds un asinsvadu sistēmas darbību, uzlabo muskuļu oksigenāciju un palielina enerģijas patēriņu, kas savukārt var ietekmēt organismā notiekošos bioķīmiskos un imūnās atbildes procesus, piemēram, mazinot hroniska iekaisuma reakcijas. Iekaisuma procesi tiek uzskatīti par vienu no galvenajiem vēža attīstības faktoriem, jo hronisks iekaisums veicina audzēja mikrovides izmaiņas, kas atbalsta vēža šūnas augšanu, invāziju, metastāzes veidošanos.[15]

Vairāki ilgtermiņa epidemioloģiskie pētījumi ir pierādījuši, ka sievietēm, kuras regulāri nodarbojas ar fiziskām aktivitātēm, ir zemāks risks saslimt ar krūts vēzi, nekā sievietes, kuras nenodarbojas ar vidēji līdz smagas intensitātes fiziskajām nodarbībām. 2015. gadā tika publicēta meta analīze, kurā tika iekļauti vairāk kā 100 000 krūts vēža gadījumi, kur tika analizēts krūts vēža riska faktori, tajā skaitā fiziskās aktivitātes ietekme. Tajā tika secināts, ka sievietes, kuras nedēļā nodarbojas ar vismaz 150 minūšu vidējas intensitātes fiziskām aktivitātēm, samazina krūts vēža risku dzīves laikā par 9%.[16]

Hronisks iekaisums ir viens no galvenajiem vēža progresēšanas faktoriem. Daudziem vēža pacientiem tiek novērots paaugstināts iekaisuma citokīnu, piemēram, IL-6 un audzēju nekrozes faktora-alfa (turpmāk tekstā - TNF- α) līmenis, kas var veicināt audzēja attīstību un metastazēšanos. Aerobā slodze iespējams var palīdzēt modulēt imūnsistēmu un samazināt hronisko iekaisumu, jo fizisko aktivitāšu laikā notiek pretiekaisuma citokīnu, piemēram, interleikīna-10 (IL-10) un arī duālās darbības citokīna IL-6 sintēzes pieaugums no skeleta muskuļa šūnām, kas samazina pro-iekaisuma signālu aktivitāti.[18]

Pētījumā, kas tika publicēts 2015.gadā, kurā analizēja 26 hronisku slimību, tostarp vēža, pacientu grupas, tika konstatēts, ka regulāras aerobās slodzes rezultātā samazinās hroniska iekaisuma marķieri un uzlabojas imūnsistēmas funkcijas. Pētījumā tika izmantotas aerobās izturības programmas, kas ietvēra vidējas intensitātes fiziskās aktivitātes (30–60 minūtes, 3–5 reizes nedēļā). Rezultāti liecināja par uzlabotu leikocītu aktivitāti, samazinātu pro-iekaisuma citokīnu, piemēram, IL-6 un C-reaktīvā proteīna (turpmāk tekstā - CRP) līmeni, kas ir īpaši paaugstināts vēža slimniekiem, kā arī uzlabotu pacientu kopējo pašsajūtu.[15] Savukārt 2018. gada publicētā pētījumā tika pierādīts, ka fiziski aktīva slodze – gan aeroba slodze, gan pretestības treniņi neietekmē citokīna IL-6 un TNF- α līmeni resnās zarnas un krūts vēža pacientiem, savukārt aeroba slodze samazināja CRP līmeni.[19]

Lai gan konkrēti aerobas slodzes ietekmes mehānismi pretvēža terapijā nav zināmi, pašsaprotami ir, ka aerobas slodzes laikā tiek izmantoti skeleta muskuļu darbs. Skeleta muskuļi nodarbojas ne tikai ar somatiskā darba veikšanu, bet tie ir arī būtiski vielmaiņas un organisma iekaisuma homeostāzes regulatori. Pēdējā desmitgadē aizvien vairāk tiek pievērsta uzmanību dažādu signālmolekulu – olbaltumvielu sintēzei tieši no muskuļšūnām kā sekrēcijas audiem, kas tālāk sekretē sintezētās vielas asinsritē. Muskuļa šūnas kontrahējoties jeb saraujoties – veicot darbu, strādā kā sekretorās šūnas un izdala lielā koncentrācijā proteīnus – miokīnus. Šīs molekulas arī varētu būt saistītas ar iespējamo pretvēža, pretiekaisuma mehānisma nodrošināšanu.[20;21]

1.3. Miokīni un to loma organismā

Pēdējo desmit gadu laikā skeleta muskuļi ir identificēti kā sekrēcijas orgāns, kuri ražo, ekspresē un atbrīvo no muskuļa šķiedrām peptīdus jeb olbaltumvielas, kuras definē kā miokīnus. Tie tiek izdalīti no muskuļa šķiedrām fiziskās slodzes laikā, šūnu kontrakcijas rezultātā. Miokīni tiek klasificēti kā endokrīnas, parakrīnas un autokrīnas signālmolekulas, kas varētu iesaistīties nozīmīgos iekaisuma mazināšanas procesos, audu reģenerācijā, enerģijas homeostāzē un iesaistās imūnās sistēmas procesos. Pēdējos gados veiktie pētījumi liecina, ka pastāv vēl neidentificēti faktori, kas izdalīti no muskuļu šūnām, kas var ietekmēt vēža šūnu augšanu.[20] Viens no nozīmīgākajiem miokīniem, kas izdalās no muskuļšķiedrām ir IL-6, kas, atkarībā no izcelsmes vietas, var darboties gan kā iekaisuma veicinošs citokīns, gan kā iekaisumu mazinošs miokīns. Tas ir svarīgs aspekts, kas jāņem vērā, lai izprastu miokīnu pozitīvo ietekmi uz cilvēka organismu.[23]

Lai gan miokīni tiek klasificēti kā citokīnu apakšgrupa, tie atšķiras pēc izcelsmes, bioloģiskās funkcijas un regulācijas mehānismiem. Tas nozīmē, ka citokīni var būt pro-iekaisuma marķieri vai pretiekaisuma marķieri, atkarībā no fizioloģiskās situācijas.

Citokīni galvenokārt tiek sintezēti imūnās sistēmas šūnās, piemēram, T limfocītu šūnās, makrofāgos un dendrītiskajās šūnās, reaģējot uz infekciju vai audu bojājumiem, kā tas arī notiek krūts vēža patoģenēzē. To loma ir iekaisuma regulācija, imūnās atbildes veidošana un audu reģenerācijas veicināšana, konkrētāk, tie var ietekmēt hematopoēzi, limfocītu piesaisti, T šūnu apakšgrupas diferenciāciju.[24]

Atšķirībā no citokīniem, miokīni tiek sintezēti un izdalīti no skeleta muskuļu šūnām fiziskās slodzes laikā. Tie darbojas kā metaboliski un imūnmodulējoši proteīni, kas palīdz regulēt enerģijas patēriņu, tauku metabolismu, insulīna jutību un piedalās pretiekaisuma procesos. Regulāras aerobās aktivitātes stimulē pretiekaisuma miokīnu izdalīšanos, kas veicina imūnās sistēmas līdzsvaru un mazina hronisku iekaisuma procesus, potenciāli, varētu piedalīties mehānismos, kas varētu samazināt arī vēža attīstību, proliferācijas ātrumu.[23] Ir jau identificēti vairāki miokīni, kas darbojas kā imūnmodulātori fiziskās slodzes laikā. Šādi miokīni ir IL-6, kas aktivē pretiekaisuma mehānismus, iespējams samazinot TNF- α līmeni, kas ir iekaisuma citokīns, un veicina miokīna IL-10 izdalīšanos. Kā vēl viens piemērs ir IL-15, kas palielina dabisko galētājšūnu (turpmāk tekstā - NK) skaitu un aktivitāti, kas ir svarīgi audzēju imūnās kontroles mehānismos.[25]

Iekaisums ir viens no galvenajiem faktoriem, kas ietekmē vēža attīstību, progresiju un terapijas efektivitāti. Tā kā miokīniem piemīt iekaisuma nomācēja īpašības, tos varētu izmantot kā potenciālus biomarķierus, lai prognozētu vēža terapijas efektivitāti, kā arī noteiktu slimības progresēšanas vai remisijas risku.[25]

2024. gadā tika publicēts pētījums, kurā tika apskatīta fiziskās slodzes ietekme uz krūts vēzi un izdalīto miokīnu loma krūts vēža šūnu augšanas un izdzīvošanas regulācijā. Šajā pētījumā tika apskatīti IL-10, ķimokīna ligands viens (turpmāk tekstā – CXCL1) un CCL4 miokīni. Tika pierādīts, ka kombinācijā šie miokīni *in vitro* krūts vēža šūnu kultūrā pēc 48h inkubēšanas samazināja vēža šūnu proliferācijas ātrumu atšķirībā no kontroles grupas, kurā netika pievienots miokīnu maisījums ($p < 0,05$).[26]

Tā kā ir pierādīts, ka vairāku veidu miokīniem piemīt pretiekaisuma un vēža šūnu attīstības nomācošas īpašības, tad ir iespējams, ka arī citi miokīni var uzrādīt tādus pašus vai labākus rezultātus krūts vēža šūnu attīstības, dalīšanās aspektos.[20]

1.4. IL-6 loma kā biomarkieris krūts vēzim

IL-6 ir pleiotropisks pro-iekaisuma citokīns un pretiekaisuma miokīns, kas piedalās plašā spektrā fizioloģisko procesu, tostarp iekaisuma regulācijā, imūnsistēmas aktivācijā, hematopoēzē un šūnu proliferācijas procesos, neesot imūnsistēmas šūnai, tas biežāk tiek salīdzināts kā hormoniem līdzīgu īpašību kopums. Šī citokīna daudzveidīgo īpašību dēļ, tas paliek aizvien biežāk apskatīts, pētīts, lai noskaidrotu mehānismus, procesus, kad un kura veida IL-6 tiek izdalīts, uzskatot, ka tas varētu būt par nozīmīgu klīniskās iejaukšanās mērķi.[28]

Veselā organismā IL-6 darbojas kā signālmolekula starp iedzimto un adaptīvo imunitāti, aktivizējot B šūnu diferenciāciju un T šūnu proliferāciju, kas atbild par imūnās sistēmas atbildes veidošanu. IL-6 kā citokīns tiek izdalīts makrofāgos, endotēlija šūnās, fibroblastos. Tomēr vēža patoģenēzē citokīna IL-6 līmenis bieži ir patoloģiski paaugstināts, un tas saistīts ar sliktāku prognozi dažādu vēžu veidiem, tostarp krūts vēzim. Augsts IL-6 līmenis stimulē STAT3 signalizāciju audzēja šūnās, kas veicina audzēja šūnu proliferāciju, izdzīvošanu un metastāžu veidošanos.[29]

Citokīns IL-6 veicina epiteliāli-mezenhimālās pārejas (turpmāk tekstā - EMT) procesu, kas ļauj krūts vēža šūnām iegūt migrācijas un invāzijas spējas, palielinot to agresivitāti un spēju metastazēties. Ir publikācijas, kas pierāda, ka krūts vēža pacientēm, kam visu laiku ir paaugstināts IL-6 līmenis asinīs ir lielāka iespēja attīstīties kaulu un plaušu metastāzēm, jo IL-6 aktivē osteoklastu darbību un angiogēnēzi audzēja mikrovidē. Tāpatās šī signālmolekula mijiedarbojas ar hipoksijas inducējamo faktoru 1-alfa, kas ir atbildīgs par audzēja pielāgošanos skābekļa trūkumam, palielinot audzēja rezistenci pret ārstēšanu.[30;34]

Lai gan IL-6 bieži tiek minēts tieši kā pro-iekaisuma citokīns, tam ir arī pretiekaisuma regulatoriskas īpašības, kas veicina pretvēža adaptīvo imunitāti. IL-6 miokīna veidā veicina regulatoro T šūnu attīstību, mainot to no nomācoša stāvokļa uz aktīvu stāvokli, kas var iesaistīties pret audzēju, nomācot krūts vēža paaugstināto imūnreakcijas procesu. IL-6 veicina T šūnu apriti limfmezglos un audzēja vietās, kur T limfocītiem ir iespēja izpildīt savas citotoksiskās funkcijas. Turklāt miokīns IL-6 nomāc iekaisuma procesu vēža audos, aktivizējot IL-10, kas ir pretiekaisuma citokīns, un samazinot TNF- α līmeni, kas ir nozīmīgs mediators krūts vēzī, piedaloties šūnu proliferācijā, izdzīvošanā un epitēlija-mezenhimālās pārejas procesos.[31;32]

Miokīna IL-6 pretvēža mehānisms varētu tikt saistīts arī ar NK šūnu stimulāciju. Lai gan nav daudz pētījumu, kas apstiprina šādu saistību, pētījumā ar pelēm, kurām tika inducēts vēzis, tika pierādīts, ka pēc fiziskām aktivitātēm asins serumā ir palielināta IL-6 koncentrācija, kas savukārt korelē ar NK šūnu skaita pieaugumu. Palielinoties aktivēto NK šūnu skaitam,

palielinājās vairāk atklāto vēžu šūnu skaits, ļaujot efektīvāk uz tām pielietot pretvēža terapiju.[33]

2023. gada pārskatā tika apkopota informācija par fiziskas slodzes laikā izdalīto IL-6, un to kā iespējamo biomarķieri, kas palīdzētu aktivēt pretvēža mehānismus organismā. IL-6, ko ražo dendrītiskās šūnas limfmezglos, imūnreakcijas laikā izraisa T šūnu aktivāciju, izdzīvošanu. IL-6 ir būtisks naīvo CD4⁺ T šūnu diferenciācijai par Th17 šūnām un aizsargā T šūnas no apoptozes. IL-6 izraisa arī paaugstinātu jutību pret insulīnu, kas var samazināt vēža risku, palielinot insulīnam līdzīga augšanas faktora saistošā proteīna (IGFBP)-3 veidošanos, samazinot insulīnam līdzīga augšanas faktora (turpmāk tekstā - IGF-1) biopieejamību. IGF-1 ir saistīts ar vairāku veidu vēžu šūnu stimulēšanu, ieskaitot krūts vēzi. Uzlabota jutība pret insulīnu samazina arī dzimumhormonu biopieejamību, jo insulīns kavē dzimumhormonus saistošā globulīna sekrēciju aknās, kas samazina, piemēram, estrogēna biopieejamību, samazinot konkrētu krūts vēža attīstību.[34]

Pētījumā, kas tika publicēts 2017. gadā, tika analizēts kā fiziskās aktivitātes ietekmē krūts vēža un kontroles grupas sievietēm asins serumā esošo biomarķieru koncentrāciju, un tālāk krūts vēžu pacientēm *in vitro* apstākļos šo vēžu šūnu attīstību ar konkrēto marķieru klātbūtni. Tika noteikta IL-6 seruma koncentrācija izmantojot ELISA. Tika atklāts, ka IL-6 koncentrācija asins serumā pēc fiziskās slodzes palielinājās par 2,4 reizēm atkarībā no pētījumu dalībnieku grupas. ($p < 0,05$). Šajā pašā pētījumā tika noskaidrots, ka *in vitro* apstākļos samazinājās MCF-7 (hormonu jutīgās) un MDA-MB-231 (hormonu nejūtīgās) krūts vēža šūnu dzīvotspēja vidēji par 11-19%. Lai gan nav noteikta tieša korelācija un mehānisms, kas saista IL-6 un vēža šūnu dzīvotspējas samazināšanos, IL-6 pieaugums pēc fiziskas slodzes varētu būt viens no iemesliem pozitīvu rezultātu iegūšanai.[35]

IL-6 lomu pretvēža mehānismos tiek pētīts arī citu vēža gadījumos. Ja atklātu iespējamus mehānismu ceļus viena audzēja veidam, tas palīdzētu noskaidrot, kā IL-6 darbojas arī krūts audzēja gadījumā. 2022. gada publicētā pētījumā tika apskatīts kā regulārās fiziskas aktivitātes ir saistītas ar samazinātu primārā un atkārtotā resnās zarnas vēža risku. 16 vīriešiem tika ievākti asins paraugi pirms un tūlīt pēc akūtas aerobas slodzes treniņa. Asins paraugos esošās vielas tālāk tika pievienotas cilvēka resnās zarnas vēža šūnas līnijām (LoVo), lai novērotu vēža šūnu proliferāciju ar cilvēka serumu. LoVo šūnu apstrādāšana ar serumu, kas iegūts uzreiz no pacientiem pēc slodzes, samazināja vēža proliferāciju, salīdzinot ar kontroli (-5,7%; $p < 0,002$). Akūta slodze arī palielināja seruma IL-6, salīdzinot ar kontroli (24,6%; $p < 0,002$). Turklāt LoVo šūnu stimulēšana ar rekombinanto IL-6 samazināja γ -H2AX ekspresiju ($\beta = -22,7\%$; $P < 0,001$) un šūnu proliferāciju ($\beta = -5,3\%$; $P < 0,001$). Šie atklājumi liecina, ka

sistēmiskās reakcijas uz akūtu aerobo vingrinājumu kavē resnās zarnas vēža šūnu proliferāciju in vitro, un to var veicināt IL-6 izraisīta DNS bojājumu un labošanas regulēšana.[36]

1.5. M-CSF loma kā biomarkieris krūts vēzim

M-CSF tāpat kā IL-6, ir divejādas dabas citokīns, kas regulē monocītu, makrofāgu un osteoklastu diferenciāciju. Tā loma organismā ir atkarīga no izcelsmes un aktivācijas mehānisma.

Iekaisuma vidē M-CSF var darboties kā audzēja progresiju veicinošs citokīns, kas tiek izdalīts makrofāgos, audzēja stromā un endotēlija šūnās, kur tas veicina M2 makrofāgu polarizāciju. Tas darbojas caur M-CSF receptoru (M-CSFR jeb CSF1R), kas ir III tipa tirozīnkināzes receptors, galvenokārt izteikts monocītu – makrofāgu līnijas šūnās. M-CSF palielina ar audzēju saistītos makrofāgu (TAM – tumor associated macrophage) daudzumu un veicina tā polarizāciju. Šie makrofāgi tiek klasificēti kā M2 tipa jeb alternatīvi aktivētie makrofāgi, kas palīdz audzējam izvairīties no organisma imūnsistēmas. Tie veicina angiogēnēzi jeb jaunu asinsvadu veidošanos audzējā, palīdz vēža šūnu invāzijai un metastāzēm, nomāc citotoksisko T-šūnu darbību, veicinot vēža rezistenci pret ķīmijterapiju, starošanu un citām terapijām.[37;38]

Izdaloties no skeleta muskuļiem fiziskās slodzes laikā, M-CSF organismā potenciāli darbojas kā audzēja nomācošs miokīns. Lai gan konkrēti mehānismi nav zināmi kā varētu M-CSF strādāt kā signālmolekula vēža profilaksē, tiek minēti vairāki iespējamie varianti. Akūtas aerobas slodzes laikā izdalītais M-CSF sinerģiski varētu strādāt ar granulocītu makrofāgu koloniju stimulējošo faktoru (GM-CSF) vai interferonu gammu, palielinot šo signālmolekulu aktivitāti. Šie faktori ir saistīti ar M1 tipa makrofāgu aktivāciju, kuriem piemīt vairākas pretaudzēja īpašības. Piemēram, M1 makrofāgi ražo IL-12, IL-1, slāpekļa oksīdu un reaktīvos skābekļa radikāļus, kas var aktivēt T šūnas vai tieši iznīcināt audzēja šūnas.[37]

M-CSF regulē monocītu proliferāciju, diferenciāciju un izdzīvošanu asins plazmā, pirms tie nonāk konkrētos audos un diferencējas par makrofāgiem. 2017. gadā publicētā pētījumā tika atklāts, ka veseliem cilvēkiem pēc 45 minūšu akūtas aerobas slodzes – riteņbraukšanas, strauji palielinājās M-CSF līmenis asins plazmā. Kā arī eksperimentā ar cilvēku muskuļu šūnu kultūrām, lietojot elektrisko impulsu stimulāciju, kas imitē muskuļu kontrakciju, M-CSF ekspresija un sekrēcija palielinājās, salīdzinot ar kontroles grupu par apmēram 200 pg/mL ($p < 0,01$). Pētījums liecina, ka pēc 12 nedēļu ilgas akūtas aerobas slodzes treniņiem pieaug M-CSFR ekspresija skeleta muskuļos. Tas var liecināt, ka muskuļu audi kļūst

jutīgāki pret M-CSF signāliem, veicinot monocītu piesaisti un to aktivāciju, kā rezultātā var samazināties iekaisuma procesi audos.[39]

2023. gada publicētajā pētījumā tika apskatīta 37 miokīnu izdalīšanās pēc akūtas aerobas slodzes aptaukojušies cilvēkiem, kam ķermeņa masas indekss ir virs 25. Pēc 30 minūšu akūtas aerobas slodzes tika novērots pieaugums par 13% MCS-F līmenī serumā. ($p < 0,01$). Salīdzinājumam, šajā pašā publikācijā tika parādīts, ka IL-6 līmenis serumā palielinājās vairāk kā 5x jeb par 500% ($p < 0,001$) pēc akūtas aerobas slodzes treniņa, taču nebija novērojamas statistiski ticami rezultāti miokīnu izmaiņām serumā IL-7, IL-15, kas norāda, ka ne visi miokīni izdalās vienveidīgi akūtas aerobas slodzes laikā.[40]

Līdz šim literatūrā nav identificēti pētījumi, kas specifiski analizētu M-CSF izdalīšanos krūts vēža pacientēm fiziskās slodzes kontekstā. Šī novērojuma neesamība uzsver šī pētnieciskā darba potenciālo novitāti un nozīmīgumu, piedāvājot jaunu skatījumu uz M-CSF lomu onkoloģiskajā vidē.

2. Materiāls un metodes

2.1. Pētījuma dalībnieki

Maģistra darbs izstrādats projekta "Iekšējā RSU un ārējā RSU ar LSPA konsolidācija" Nr.5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/005 grants RSU/LSPA-ZG-2024/1-0001" Fiziskās aktivitātes, kā sekundārā krūts vēža prevencijas līdzeklis: molekulāro mehānismu longitudināls pētījums" ietvaros. Pētījumu apstiprināja Rīgas Stradiņa Universitātes pētījuma ētikas komiteja ar lēmuma numuru - 2-PĒK-4/426/2024.(sk.1. pielikums)

Pētījumā tika iekļautas 43 sievietes, iekļaušanas kritēriji pētījumā bija:

- 1) Iepriekš neārstēts primārs krūts vēzis, kas iekļaujas šajās stadijās - IIA-B, IIIA-C (TNM: T1-4, N0-3, M0) diagnozes noteikšanas brīdī
- 2) Diagnoze noteikta ar biežās adatas biopsijas metodi
- 3) Sievietes vecumā no 30 līdz 65 gadiem
- 4) Nozīmēta neoadjuvanta ķīmijterapija, kuras pamatā ir doksorubicīns/ciklofosfomīds.

Izslēgšanas kritēriji:

- 1) Sirds patoloģijas, kas tika novērtēts ar elektrokardiogrammu
- 2) Asins pārliešana pēdējo sešu mēnešu laikā
- 3) Diagnosticēta cita onkoloģiska slimība
- 4) Iepriekšēja ķīmijterapija, hormonālā vai staru terapija
- 5) Dalība citā klīniskajā pētījumā

Pētījumā visi dati ir iegūti no krūts vēža pacientēm. Pēc nejaušības principa pētījuma dalībnieces tika sadalītas divās grupās. Kontroles grupā krūts vēža pacientēm nebija jāveic ikdienā papildus slodzes treniņi, treniņa programmas grupā pētījuma dalībnieces veica katru nedēļu fiziskās aktivitātes. Pētījuma dalībnieka informēto piekrišanu skat.2.pielikumā.

2.2. Ķermeņu uzbūves dati un asins paraugu analīzes

Pētījuma dalībniekiem pirms akūtās aerobas slodzes tika rekomendēts neveikt vidējas un augstas intensitātes fiziskās aktivitātes pēdējo 24 stundu laikā, kā arī atturēties no ēšanas 3 stundas pirms testa veikšanas. Pirms aerobas slodzes testa dalībniekiem tika noteikts ķermeņa masas indekss (turpmāk tekstā - BMI) nomērot pacientu augumu ar 1,0 cm precizitāti, kā arī nosakot ķermeņa svaru ar medicīniskajiem svariem.

Pētījuma dalībniekiem no roku vēnas tika paņemts analīžu paraugs pirms katra akūtās aerobās slodzes testa un tā pēdējā minūtē ar ārstniecības personas palīdzību, kurš ir apmācīts to darīt un var praktizēt.

Pēc asins paraugu iegūšanas tie tika apstrādāti ar tūlītēju centrifugēšanu, kas noritēja 15 minūtes, iestatītie apgriezieni $>1,300-2,000 \times g$ $4^{\circ}C$ temperatūrā. Tālāk tie tika uzglabāti $-80^{\circ}C$ temperatūrā līdz turpmākai analīzei.

2.3.Slodžu testi

2.3.1. Akūtās aerobas slodzes tests

Fiziskās slodzes tests tika veikts LSPA sporta veselības izpētes laboratorijā. Fizisko darba spēju novērtēšanai tiks veikti trīs dažādi fiziskās slodzes testi, kuri kopā sniegs vispusīgu priekšstatu par dalībnieku aerobo kapacitāti, muskuļu izturību un funkcionālo veiktspēju. Izvēlētās testēšanas metodes ir piemērotas dalībniecēm pēc onkoloģiskas ārstēšanas, balstītas uz starptautiskām vadlīnijām un pielāgotas konkrētā mērķa populācijai.

Pētījuma dalībnieces veica fizikālās slodzes testu uz skrejceļa, kurā tiks noteikts maksimālais vai submaksimālais skābekļa patēriņš ($VO_2\text{peak}$). Šim nolūkam tiks izmantots modificētais Bruce protokols, kas ir pakāpeniskas slodzes tests ar progresējošu ātruma un slīpuma pieaugumu ik pēc trim minūtēm. Protokols tiks piemērots, ievērojot Ziemeļkolorādo universitātes vēža rehabilitācijas institūta (UNCCRI) metodoloģiju, kas izstrādāta, lai droši novērtētu fiziskās spējas onkoloģisko pacientu populācijā (Shackelford et al., 2017). Testa laikā tiks reģistrēti vairākas fizioloģiskie parametri, tostarp skābekļa patēriņš (VO_2 , $L \cdot \text{min}^{-1}$ un $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), oglekļa dioksīda izdale (VCO_2 , $L \cdot \text{min}^{-1}$), elpošanas apmaiņas koeficients (RER), plaušu ventilācija (VE, $L \cdot \text{min}^{-1}$), kā arī maksimālais sasniegtais VO_2 . Papildus tiks nepārtraukti monitorēta sirdsdarbības frekvence un subjektīvais slodzes novērtējums, izmantojot modificēto Borga skalu. Testa veiktspējas kritēriji ietver maksimālās sirdsdarbības frekvences sasniegšanu ($>95\%$ no vecumam atbilstošās maksimālās vērtības), RPE vērtību vismaz 8 balles un RER lielāku par 1,10, kas liecina par augstas intensitātes aerobas slodzes sasniegšanu.

2.3.2. Sešu minūšu iešanas tests

Pētījuma dalībniecēm tika veikts sešu minūšu iešanas tests (6-minute walk test – 6MWT), kas ir plaši izmantots vienkāršs, praktisks un klīniski nozīmīgs tests, ko izmanto

submaksimālās aerobo spēju novērtēšanai dažādās klīniskajās populācijās, tostarp pacientiem ar onkoloģiskām un hroniskām slimībām (Murphy et al., 2021; Schmidt et al., 2013; Ross et al., 2010). Tests tiks veikts iekštelpās, izmantojot 30 metrus garu, taisnu maršrutu, kas skaidri atzīmēts ar redzamiem orientieriem, piemēram, oranžiem konusiem, atbilstoši American Thoracic Society (2002) vadlīnijām. Dalībnieci tiks lūgts doties turp un atpakaļ pa šo distanci ar sev maksimāli iespējamo, bet vienmērīgu iešanas tempu, neuzsākot skriešanu. Testa laikā tiks monitorēta sirdsdarbības frekvence, izmantojot Polar H10 sirdsdarbības sensoru, un ik pēc vienas minūtes dalībniece tiks informēta par atlikušo laiku. Pēc testa tika fiksēts kopējais noietais attālums metros, būtiskākais šī testa rezultāts, kā arī tika fiksēts maksimālais sasniegtais sirdsdarbības ritms.

2.3.3. Sēdus-stāvus tests

Muskuļu spēka un funkcionālās spējas novērtēšanai tiks veikti divi “sēdus–piecelties” testi (sit-to-stand- turpmāk tekstā SST), gan pirms terapijas, balstoties uz validētiem protokoliem (Diaz-Balboa et al., 2022; Lavin-Perez et al., 2023; Cristian, 2023). Šis tests tika veikts gan pētījuma sākumā - pirms terapijas. gan pēc terapijas periodā. Testēšanai tiks izmantots standarta augstuma krēsls bez roku balstiem, novietots pie sienas, lai novērstu krēsla pārvietošanos slodzes laikā. Dalībniecē, turot rokas sakrustotas uz krūtīm, tiks dots signāls “SĀKT!”, pēc kura viņas atkārtoti izpildīja sēdus un stāvus kustības ar pilnīgu ķermeņa iztaisnošanu augšupceļā un pilnu apsēšanos lejupceļā. Trīsdesmit sekunžu testa laikā tika reģistrēts veikto atkārtojumu skaits, savukārt piecu atkārtojumu testā tika fiksēts laiks, kurā dalībnieces spēja veikt piecas pilnas kustības. Šie testi ļauj novērtēt apakšējo ekstremitāšu muskuļu spēku, eksplozivitāti un funkcionālo kapacitāti, kas ir būtiski fiziskās neatkarības saglabāšanai ikdienas dzīvē.

2.4.Imunoloģiskā analīze

Imunoloģiskajā analīzē, lai noteiktu asins seruma paraugos miokīnu IL-6 un M-CSF koncentrāciju, tika izmantota Luminex® xMAP® tehnoloģija (Milliplex® Map Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A, Cat. No.: HCYTA-60K, EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Šī analīze tika veikta, lai noteiktu IL-6 un M-CSF līmeni gan pirms terapijas – pirms un pēc akūtas aerobas slodzes, gan otrajā pētījuma punktā pēc

terapijas – arī pirms un pēc akūtas aerobas slodzes. Imunoloģiskās analīzes ilgums bija divas dienas.

Pirms analīzes tika sagatavoti nepieciešamie buferšķīdumi atbilstošos atšķaidījumos. No 60 ml 10x mazgāšanas buferšķīduma koncentrāta, kas satur 0,05 % proklīnu (konservantu), tika sagatavoti 600 ml darba šķīduma, atšķaidot to ar 540 ml dejonizēta ūdens. Visi reaģenti pirms lietošanas tika atstāti istabas temperatūrā (20–25 °C).

Tika sagatavoti septiņi standarta šķīdumi, kas tika veidoti ar atšķaidīšanas metodi. Papildus tika sagatavoti arī kontroles šķīdumi – *Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Quality Controls 1 and 2* (Cat. No. HCYTA-6060-2), paredzēti 38-plex un 48-plex komplektiem.

Tika izmantota 96 iedobju plate. Katrā iedobē pievienoja 200 µL mazgāšanas buferšķīduma. Plate tika noslēgta, maisīta uz kratītāja 10 minūtes istabas temperatūrā, pēc tam šķīdums tika izliets, plate apgriezta otrādi un vairākas reizes uzsista uz absorbējošā dvieļa, lai noņemtos atlikušais šķīdums.

Katram standartam tika pievienoti 25 µL attiecīgā šķīduma, bet fona kontrolei izmantots analīzes buferšķīdums (0 pg/ml). Paraugu iedobēs pievienoja 25 µL analīzes bufera.

Tālāk visās – fona, standarta un kontroles – iedobēs pievienoja 25 µL seruma matrices šķīduma (Human Cytokine Panel A Serum Matrix, Cat. No. MXHSM-A, Vācija). Pēc tam katrā parauga iedobē tika pievienoti 25 µL neatšķaidīta seruma parauga. Katrā iedobē pievienoja arī 25 µL ar specifiskām antivielām piesaistīto magnētisko lodīšu. Pudelīti ar lodītēm lietošanas laikā periodiski sakratīja, lai novērstu to nosēšanos traukā.

Plātne tika noslēgta ar plātnes vāku, aptīta ar alumīnija foliju un nolikta inkubēties ledusskapī (2-8 °C) uz nakti (16-18h).

Otrajā dienā pēc inkubēšanas, plātnes saturs tika mazgāts 3 reizes ar 200 µl mazgāšanas buferšķīdumu. Pēc tam katrā iedobē pievienoja 25 µL detekcijas antivielu (Human Cytokine Panel A Detection Antibodies A, Cat. No. HCYTA-1060-2), kas iepriekš tika izņemtas no ledusskapja un uzsildītas līdz istabas temperatūrai. Antivielas piesaistās konkrētajam analītam. Plate tika noslēgta, pārklāta ar foliju un inkubēta uz kratītāja vienu stundu istabas temperatūrā. Pēc inkubācijas plati neaspirē jeb neizskalo.

Pēc šīs inkubācijas plate netika skalota. Katrā iedobē pievienoja 25 µL streptavidīna-fikoeritrīna (Cat. No. L-SAPE3, Vācija), kas rada fluorescējošo signālu mērīšanas fāzē. Plate atkal tika noslēgta, pārklāta ar foliju un inkubēta uz kratītāja 30 minūtes istabas temperatūrā. Pēc 30 minūtēm plate tika mazgāta trīs reizes ar 200 µl mazgāšanas buferšķīdumu. Pēc izmazgāšanas katrā iedobē tika pievienots 150 µl Sheat Fluid PLUS (Cat. No. 40-50021). Paraugu plate tiek uzlikta 5 minūtes uz kratītāja, lai magnētiskās lodītes var atkal sajaukties

vienmērīgā suspensijā, lai Luminex® instruments varētu veikt analīzi, iedzenot tās detektorā un nolasot fluorescenci katrai lodītei.

Pēc paraugu sakratīšanas, plate tika ievietota Luminex® iekārtā, kurā tika uzstādīti instrukcijām atbilstoši iestatījumi – parauga tilpums ir 100 µl, lodīšu skaits vienā komplektā – 50, maksimālais mērīšanas laiks vienai iedobei – 60 sekundes.

Pēc imunoloģiskās analīzes un iegūtajiem fluorescences rezultātiem, izmantojot parametru – mediānas fluorescences intensitāte, tiek automātiski ģenerēta miokīnu reālā koncentrācija (pg/ml).

2.5.Datu apstrāde un analīze

Pēc Luminex® instrumenta imunoloģiskās analīzes dati tika saglabāti datorā, izmantojot “Microsoft Excel” datorprogrammu. Statistiskā analīze tika veikta izmantojot SPSS Statistics v 26.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, ASV) ar ticamības intervālu $p < 0.05$.

Datu analīzē tika ietverta aprakstošā statistika, kur rezultāti tika parādīti kā vidējie un standartnovirzes (SD). Datu normālsadalījums tika noteikts izmantojot Shapiro-Wilk normalitātes testu, rezultātus atspoguļojot histogrammās un tabulās ar Shapiro-Wilka normalitātes testa p vērtību. Ja $p > 0.05$ tad dati ir sadalīti normāli un datu apstrādei tiek izmantoti parametriskie testi (t-tests), atspoguļoti ar vidējo vērtību un standartnovirzi. Ja dati neatbilst normālam sadalījumam, tad atšķirības starp miokīnu IL-6 un M-CSF izdalīšanos pētījuma dalībniekiem pirms un pēc akūtas aerobas slodzes katra pētījuma laika posmā tika novērtētas ar Wilkoksona testu un rezultāti atspoguļoti kā mediāna un starpkvartīļu diapazonu. Iegūtie rezultāti tiks reprezentēti box plot grafikos, kur var redzēt koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc slodzes.

Lai noskaidrotu, vai miokīnu izdalīšanās ir saistīta ar vecumu vai BMI, dati tiks sadalīti vairākās neatkarīgās grupās. Lai pārbaudītu vai ir statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām tika veikts neatkarīgā parauga t-tests vai Mann-Whitney U tests, ja dati nebija normālsadalīti starp grupām.

Tika veikta statistiskā analīze darbaspējas – funkcionālajiem rādītājiem un aprakstošajiem parametriem izmantojot pāru t-testu vai Wilkoksona rangu tests nenormālsadalītiem datiem.

Korelācijas analīzei gan starp miokīnu koncentrācijām, gan funkcionālajiem rādītājiem, gan aprakstošajiem datiem tika izmantots Spīrmena tests, kur tika noteikts Spīrmena korelācijas koeficients, kā arī norādīta korelācijas p vērtība. Nozīmīgākās korelācijas tika atspoguļotas grafikā.

3. Rezultāti

3.1. Aprakstošā statistika

Pētījumā kopumā piedalījās 43 dalībnieces, taču dažādu parametru analīzē izmantoti tikai tie dati, kuri bija pilnībā pieejami attiecīgajiem rādītājiem. No 43 dalībniecēm informācija par vecumu un KMI bija pieejama 34 personām abos pētījuma laika posmos. Pētījuma otrajā laika posmā - pēc terapijas dati par biomarkieru izdalīto koncentrāciju pēc akūtas aerobas slodzes tika iegūti no 13 pētījuma dalībniecēm.

Tika noskaidrotas krūts vēža diagnozes 42 no 43 pētījuma dalībniecēm. TNBC diagnoze bija 15 pētījuma dalībniecēm. Luminal B, HER- 11 pētījuma dalībniecēm, Luminal B, HER+ 7, Luminal A diagnoze 6 pētījuma dalībniecēm, toties HER+ diagnoze tika apstiprināta 3 pētījuma dalībniecēm.

Vidējais vecums 34 pētījuma dalībniecēm bija 47.5 ± 8.3 (mean $\pm$ SD) gadi, savukārt KMI pirms terapijas ir 26.3 ± 3.9 , bet pēc terapijas 26.1 ± 3.7 . Pētījumā piedalījās sievietes no 35 līdz 64 gadu vecumam.

Pēc Shapiro-Wilk testa rezultātiem tika noteikts, ka normāsadalīti dati ir iegūti vecumam ($p=0.144$), ķermeņa masas indeksam gan pirms terapijas ($p=0.138$), gan pēc terapijas ($p=0.661$), sešu minūšu iešanas testa ($p=0.794$) un submaksimālā skābekļa patēriņa ($p=0.942$) rezultātiem pirms terapijas, sēdus-stāvus testa rezultātiem pēc terapijas ($p=0.222$) un M-CSF koncentrācijai pēc terapijas.

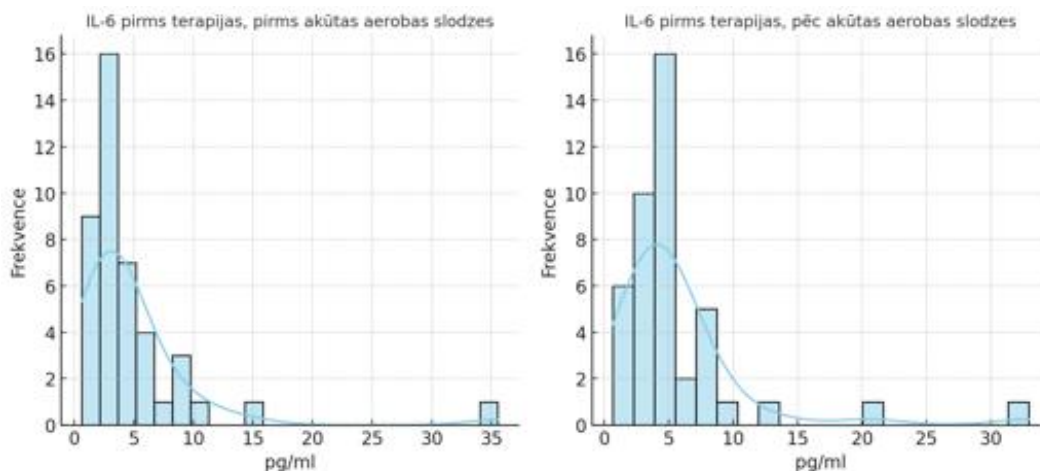
Detalizēti rezultāti atspoguļoti 3.1.tab., kur redzamas pacientu skaits (N), vidējās vērtības ar standartnovirzi, mediāna ar starpkvartīļu diapazons (25%-75%), katram mērījumam, kā arī noteikta minimālā, maksimālā vērtība, lai precīzāk var saprast iegūto datu intervālus.

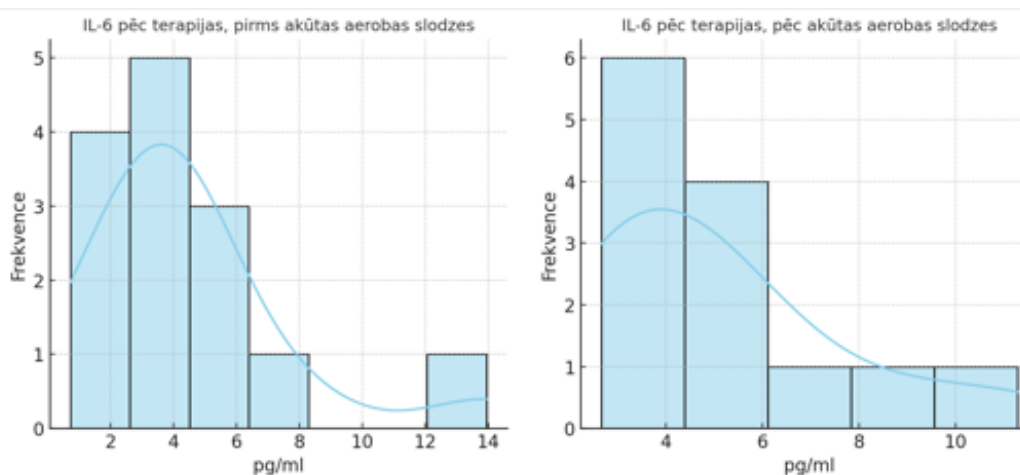
3.1.tab. Aprakstošās statistikas rezultāti.

Parametrs	N, skaits	Vidējais $\pm$ SD	Mediāna, IQR	Min	Max
Vecums (gadi)	34	47.5 ± 8.3	46.5 [39.75 - 52.00]	35.0	64.0
Ķermeņa masas indekss (KMI), pirms terapijas	34	26.3 ± 3.9	26.3 [22.93 - 29.07]	19.8	36.8
Ķermeņa masas indekss (KMI), pēc terapijas	34	26.1 ± 3.7	26.4 [23.55 - 28.53]	19.6	34.9
VO ₂ peak (ml/kg/min), pirms terapijas	34	28.9 ± 4.1	28.6 [26.56 - 31.26]	20.0	38.3
VO ₂ peak (ml/kg/min), pēc terapijas	34	27.2 ± 6.3	26.9 [22.77 - 29.81]	17.3	48.4
6 minūšu iešanas tests, distance (m), pirms terapijas	34	608.6 ± 45.8	612.5 [571.25 - 640.25]	500.0	732.0
6 minūšu iešanas tests distance, (m), pēc terapijas	34	619.3 ± 71.9	629.0 [595.50 - 669.00]	471.0	739.0

6 minūšu iešanas tests, HRmax (bpm), pirms terapijas	34	150.5±18.6	153.5 [136.50 - 165.00]	110.0	187.0
6 minūšu iešanas tests HRmax (bpm), pēc terapijas	34	151.0±17.8	150.0 [140.00 - 162.75]	121.0	195.0
Sēsties-stāvēt skaits (30s), pirms terapijas	34	20.9±4.7	21.5 [17.00 - 25.00]	13.0	28.0
Sēsties-stāvēt skaits (30s), pēc terapijas	34	23.5±5.4	24.0 [21.25 - 27.00]	12.0	33.0
IL-6 (pg/ml), pirms terapijas, pirms slodzes	43	4.8±5.6	3.2 [2.31 - 5.09]	0.6	35.5
IL-6 (pg/ml), pirms terapijas, pēc slodzes	43	5.6±5.5	4.4 [2.90 - 5.74]	0.6	32.9
IL-6 (pg/ml), pēc terapijas, pirms slodzes	14	4.5±3.3	3.6 [2.78 - 5.08]	0.7	13.9
IL-6 (pg/ml), pēc terapijas, pēc slodzes	13	5.1±2.6	4.5 [2.96 - 5.92]	2.7	11.3
M-CSF (pg/ml), pirms terapijas, pirms slodzes	43	190.3±106.2	159.9 [102.79 - 277.84]	33.1	426.9
M-CSF (pg/ml), pirms terapijas, pēc slodzes	43	205.4±112.0	192.9 [128.45 - 244.29]	26.1	459.1
M-CSF (pg/ml), pēc terapijas, pirms slodzes	14	210.2±218.7	159.0 [102.21 - 182.58]	61.4	927.2
M-CSF (pg/ml), pēc terapijas, pēc slodzes	13	180.4±80.1	145.4 [120.24 - 242.60]	71.5	321.1

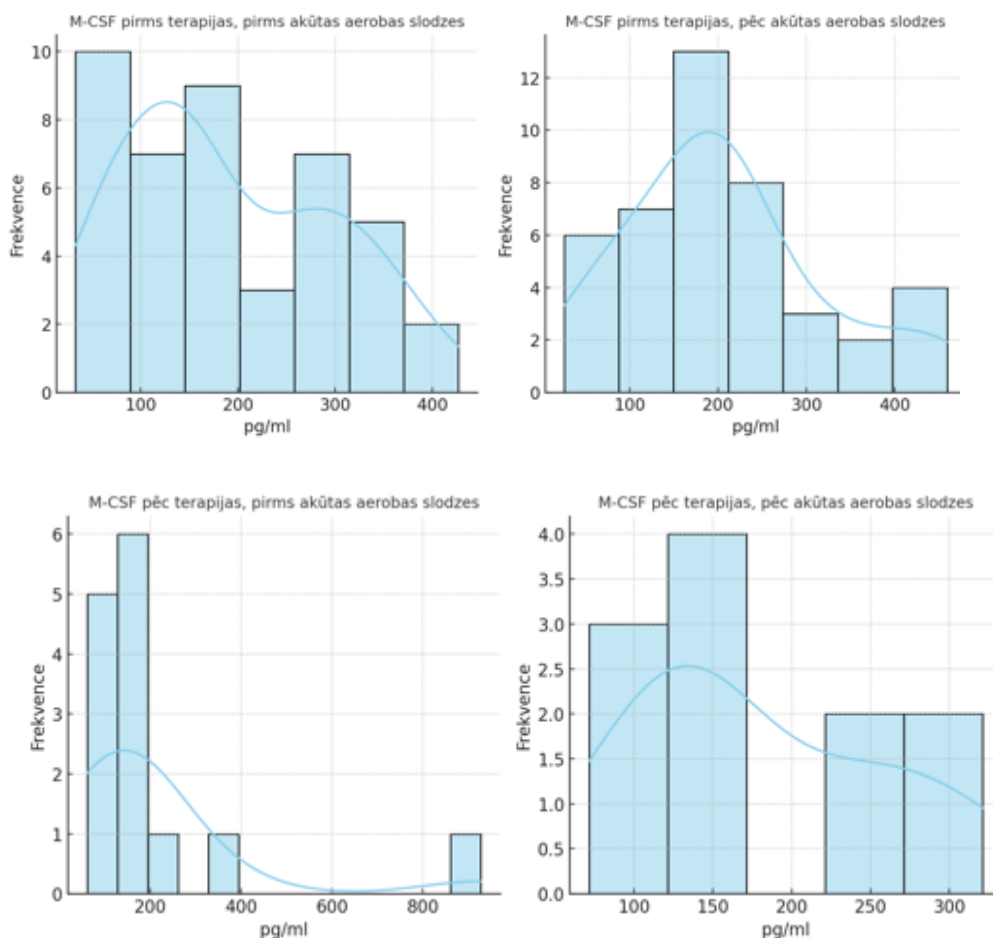
Tika noskaidrots, ka IL-6 koncentrācijas rādījumi gan pirms, gan pēc akūtas aerobas slodzes abos pētījuma laika posmos – pirms un pēc terapijas nav normālsadalīti. IL-6 pirms terapijas pirms slodzes Shapiro-Wilk-p-vērtība = 0.0; IL-6 pirms terapijas pēc akūtas aerobas slodzes p=0.0; IL-6 pēc terapijas pirms akūtas aerobas slodzes p=0.005, IL-6 pēc terapijas pēc akūtas aerobas slodzes p=0.033. (sk.3.1.1.att.)





3.1.1.att. IL-6 normālsadalījuma pārbaude visos laika punktos.

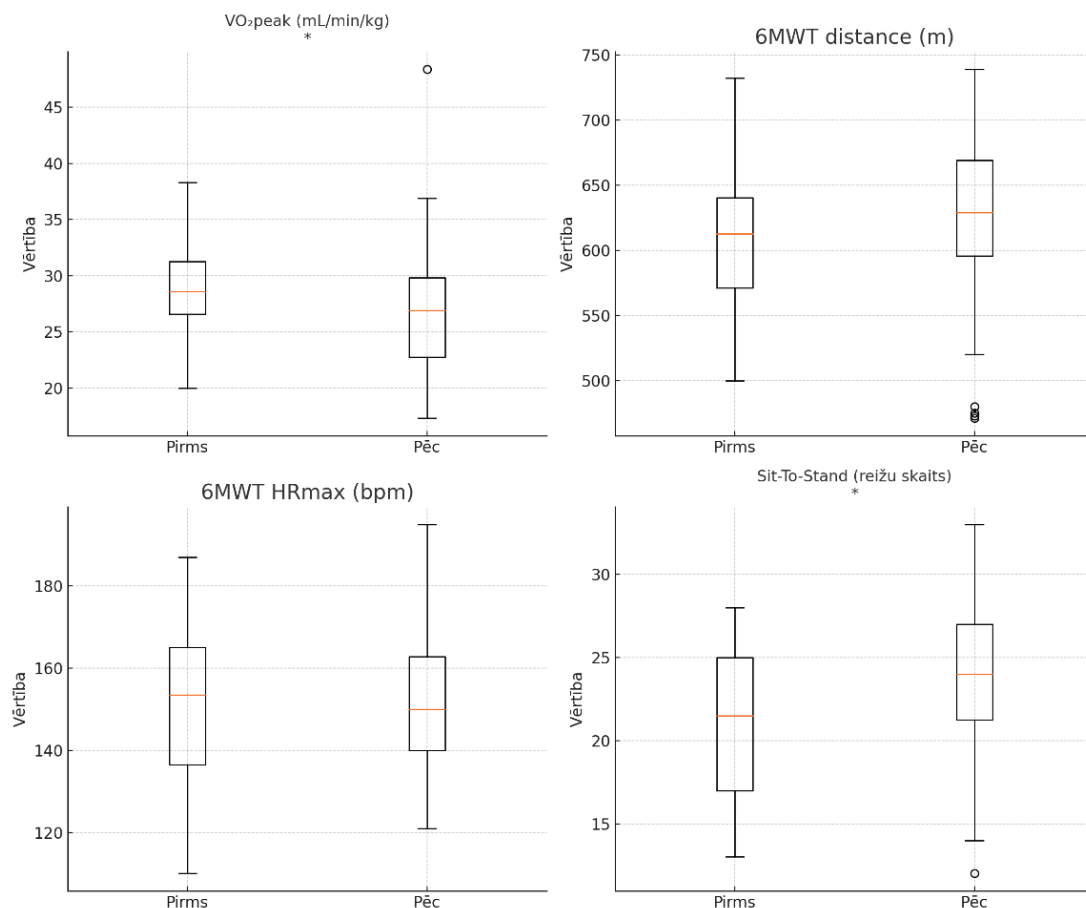
M-CSF koncentrācijas rezultāti pirms terapijas gan pirms, gan pēc akūtas aerobas slodzes pēc normalitātes testa veikšanas uzrāda, ka dati nav normālsadalīti. Respektīvi, M-CSF pirms terapijas pirms akūtas aerobas slodzes uzrādīja normalitātes sadalījuma $p=0.025$, pēc akūtas aerobas slodzes $p=0.048$. Savukārt pēc terapijas pirms slodzes testa dati nav normālsadalīti $p=0.0$, taču pēc fiziskās slodzes testa iegūtie dati ir normālsadalīti, kur $p=0.240$.(sk.3.1.2.att.)



3.1.2.att. M-CSF normālsadalījuma pārbaude visos laika punktos.

3.2. Fizisko veikspējas izmaiņas rezultāti

Tika veikta salīdzināšana starp funkcionālajiem darbaspējas novērtēšanas testa rezultātiem atkarībā no pētījuma laika punkta – pirms un pēc terapijas. Tika apskatīts VO₂peak rādītāji, 6MWT distance (m), 6MWT sirds frekvence (bpm), sit-to-stand tests 30 sekundēs.



3.2.1.att. Fiziskās veikspējas rezultāti pirms un pēc terapijas.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

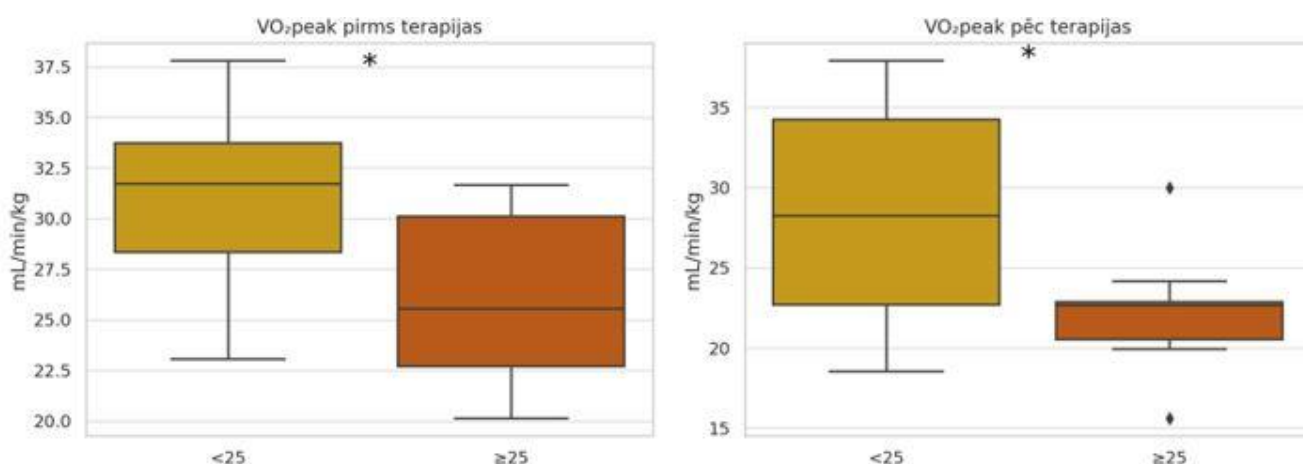
Sit-To-Stand testā tika novērots statistiski nozīmīgs uzlabojums – mediāna pieauga no 21.5 reizēm/30 sek (IQR: 17.0–25.0) līdz 24.0 reizēm/30 sek (IQR: 21.3–27.0), $p = 0.0023$ (Wilcoxon tests). VO₂peak rādītāji samazinājās pēc terapijas par 1,7 mL/min/kg no sākotnējā rādījuma, uzrādot statistiski nozīmīgas izmaiņas, $p = 0.0077$, kas varētu būt saistīts ar terapijas kardiotoxicitātes blakusparādībām. Savukārt 6 minūšu iešanas testā (6MWT) netika novērotas būtiskas izmaiņas distancē (mediāna pirms: 612.5 m, pēc: 629.0 m; $p = 0.2556$) vai maksimālajā sirdsdarbības frekvencē (*HRmax*). Tā kā *HRmax* rādītāji abos laika punktos bija normāli sadalīti, tika aprēķināts vidējais un standartnovirze: pirms terapijas 150.5 ± 18.6 bpm, pēc terapijas 151.0 ± 17.8 bpm ($p = 0.6240$). (sk.3.2.1.att.)

Tika veikts vienas laika punkta salīdzinājums starp diagnozēm, kā arī delta salīdzinājums starp diagnozēm. Nevienā no statistikas testiem netika novērota starp diagnozēm statistiski nozīmīga atšķirība.

Tika veikta divu laika punktu salīdzinājums katras diagnozes ietvaros, lai noskaidrotu vai fiziskās veikspējas testa rezultāti ir mainījušies diagnozes ietvaros. Šajā gadījumā tika noskaidrots, ka Luminal B, HER- diagnozes pacientēm $VO_2\text{peak}$ samazinājās no 26.91 ± 4.91 pirms terapijas mL/min/kg uz 24.21 ± 4.17 mL/min/kg pēc terapijas, $p < 0.05$.

Lai novērtētu fiziskās darbaspējas rādītājus atkarībā no ķermeņa masas indeksa, dalībnieki tika sadalīti divās grupās: normāls KMI ($<25 \text{ kg/m}^2$) un paaugstināts KMI ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$). Salīdzinājums tika veikts gan pirms, gan pēc terapijas, izmantojot Mann–Whitney U testu. Tā kā dati bija normāli sadalīti, rezultāti tiek atspoguļoti kā vidējās vērtības $\pm$ standartnovirze.

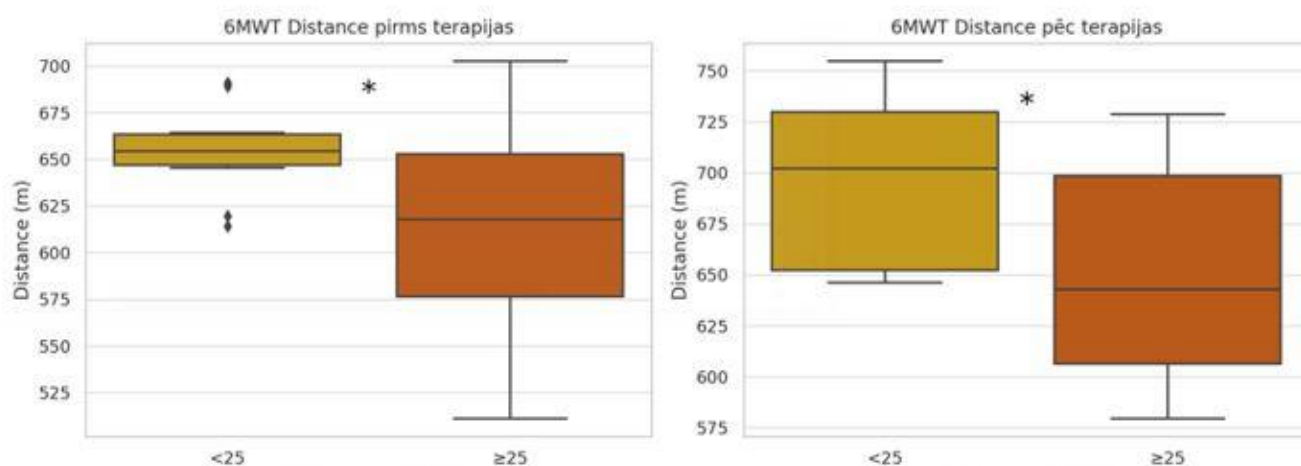
$VO_2\text{peak}$ (mL/min/kg) pirms terapijas bija statistiski būtiski augstāks dalībniekiem ar normālu KMI (31.18 ± 3.47) salīdzinājumā ar paaugstināta KMI grupu (27.31 ± 3.85 , $p < 0.05$). Šī atšķirība saglabājās arī pēc terapijas (30.82 ± 6.76 vs 24.66 ± 4.51 , $p < 0.05$). (sk. 3.2.2.att.)



3.2.2.att. Submaksimālā skābekļa patēriņa rezultāti atkarībā no ķermeņa masas indeksa.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

6 minūšu iešanas testā (6MWT distance) dalībniekiem ar normālu KMI bija būtiski labāka distance gan pirms ($637.5 \pm 38.4 \text{ m}$) salīdzinājumā ar paaugstināta KMI grupu ($588.3 \pm 39.8 \text{ m}$, $p < 0.05$), gan pēc terapijas ($658.1 \pm 46.5 \text{ m}$ vs $592.2 \pm 74.9 \text{ m}$, $p < 0.05$). Savukārt Sit-To-Stand testā netika novērotas statistiski būtiskas atšķirības starp KMI grupām ne pirms ($p = 0.5986$), ne pēc terapijas ($p = 0.3902$). (sk.3.2.3.att.)

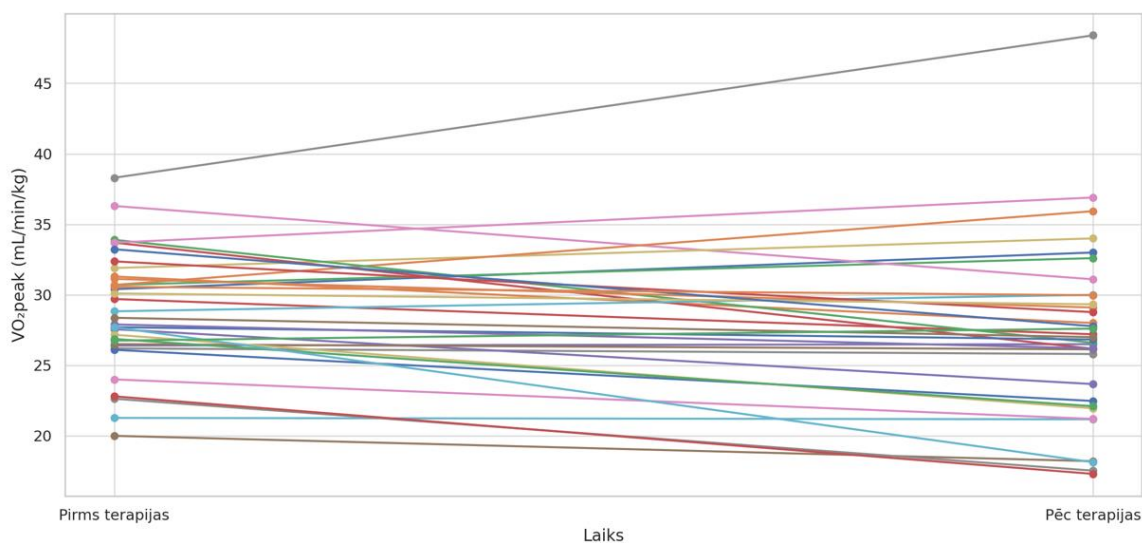


3.2.3.att. Sešu minūšu iešanas testa rezultāti atkarībā no ķermeņu masas indeksa.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

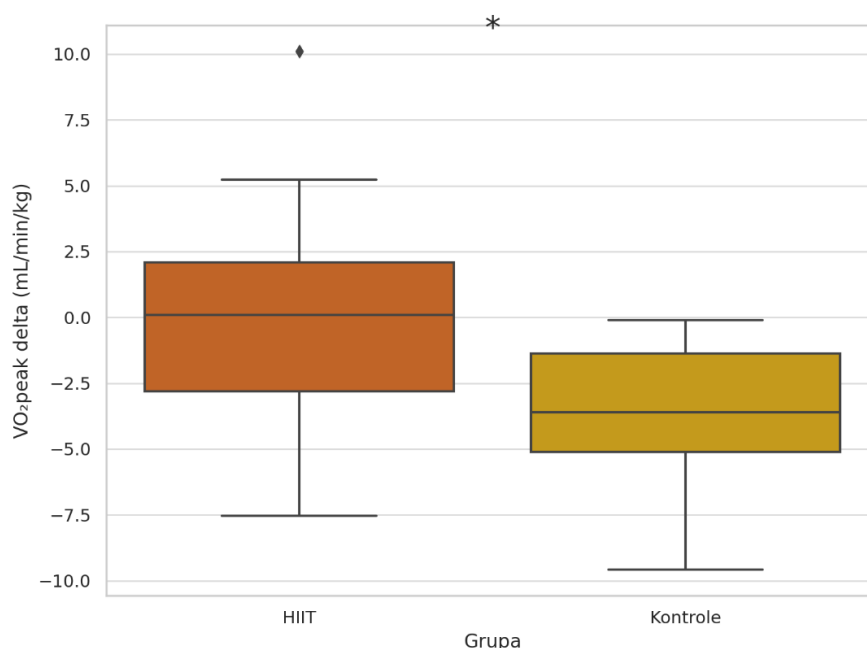
Tika veikta tendenču izmaiņu salīdzināšana fiziskās veikspējas testu rezultātos visām 43 pētījuma dalībniecēm abos pētījuma laika posmos - pirms un pēc terapijas.

Lai padziļināti analizētu terapijas efektu uz pētījuma dalībnieču kardiorespiratoro veikspēju, tika aprēķināta individuālā izmaiņa jeb delta vērtība submaksimālā skābekļa patēriņa testā ($VO_2\text{peak}$). No visām 34 dalībniecēm, kurām bija pieejami pilni dati par $VO_2\text{peak}$ pirms un pēc terapijas, 9 (26.5%) sievietēm tika novērots $VO_2\text{peak}$ pieaugums, savukārt 25 (73.5%) sievietēm – samazinājums. No 9 dalībniecēm, kurām šis fiziskās veikspējas rādītājs uzlabojās 5 dalībnieces bija $\text{KMI} < 25$ grupā 4 dalībnieces $\text{KMI} \geq 25$ grupā. Vidējais uzlabojums starp uzlabojušos pacientu grupu bija +3.03 mL/min/kg, savukārt starp pasliktinājušos – -3.42 mL/min/kg.(sk.3.2.4.att.)



3.2.4.att. Individuālās izmaiņas maksimālā skābekļa patēriņa testā.

Tā kā visas pacientes, kurām uzlabojās maksimālā skābekļa patēriņa rezultāti bija treniņa programmas grupā, tika noteikts vai starp treniņa programmas un kontroles grupu ir novērojama statistiski būtiska atšķirība, salīdzinot $VO_2\text{peak}$ izmaiņas (delta vērtības). No 17 dalībniecēm treniņa programmas grupā (HIIT) 9 tika novērots uzlabojums, savukārt nevienai no kontroles grupas netika novērotas maksimālā skābekļa patēriņa uzlabojumi akūtas aerobas slodzes laikā. Vidējās izmaiņas kontroles grupā bija -3.30 mL/min/kg , savukārt treniņa programmas grupā vidējās izmaiņas $= -0.12 \text{ mL/min/kg}$ ($p < 0.05$). (sk.3.2.5.att.)

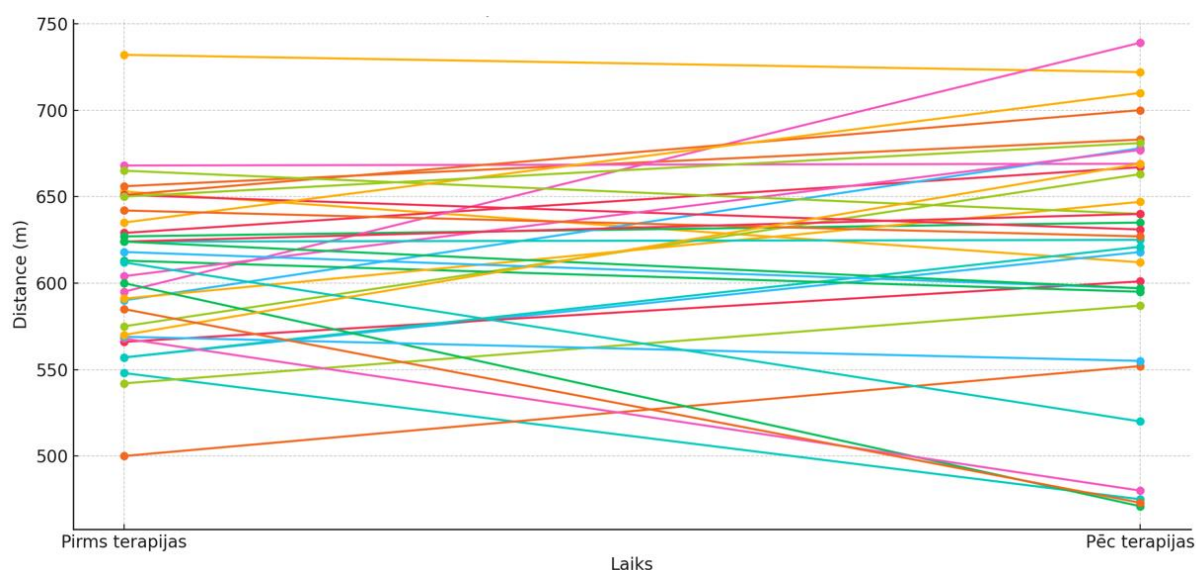


3.2.5.att. Treniņprogrammas un kontroles grupas izmaiņas maksimālā skābekļa patēriņa testā.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

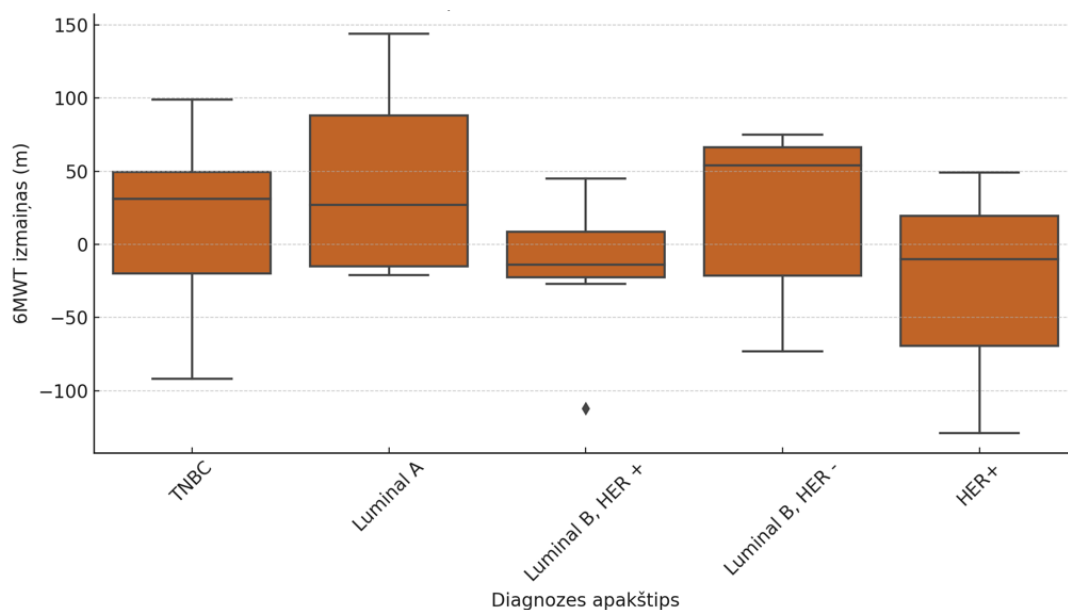
6MWT tika izmantots kā viens no galvenajiem funkcionālās izturības rādītājiem, lai novērtētu terapijas un treniņu programmas ietekmi uz pētījuma dalībnieču fizisko kapacitāti. Kopumā no visām pētījumā iekļautajām dalībniecēm 20 sievietēm (58.8%) tika novērots 6MWT distances pieaugums, bet 14 dalībniecēm (41.2%) – samazinājums pēc terapijas. Vidējais uzlabojums to pētījuma dalībnieču vidū, kuras uzrādīja pozitīvas izmaiņas bija +52.55 metri, savukārt to pacientu vidū, kurām rezultāti pasliktinājās, vidējais samazinājums bija -48.93 metri. Pētījuma dalībniecēm, kurām bija 6MWT rezultātu uzlabojums astoņas bija ĶMI < 25 grupā, 13 dalībnieces piederēja pie treniņa programmas grupas, kā arī tika iekļautas visas krūts vēža apakštipa diagnozes pacientes. Šie rezultāti liecina par kopēju pozitīvu tendenci, tomēr ar individuāli ļoti dažādu terapijas ietekmi. (sk.3.2.6.att.). Salīdzinot pacientes pēc

ķermeņa masas indeksa $\text{KMI} < 25$ grupā vidējās izmaiņas bija +20.64 metri, savukārt $\text{KMI} \geq 25$ grupā vidējās izmaiņas bija +3.85 metri.



3.2.6.att. Individuālās izmaiņas sešu minūšu iešanas testā.

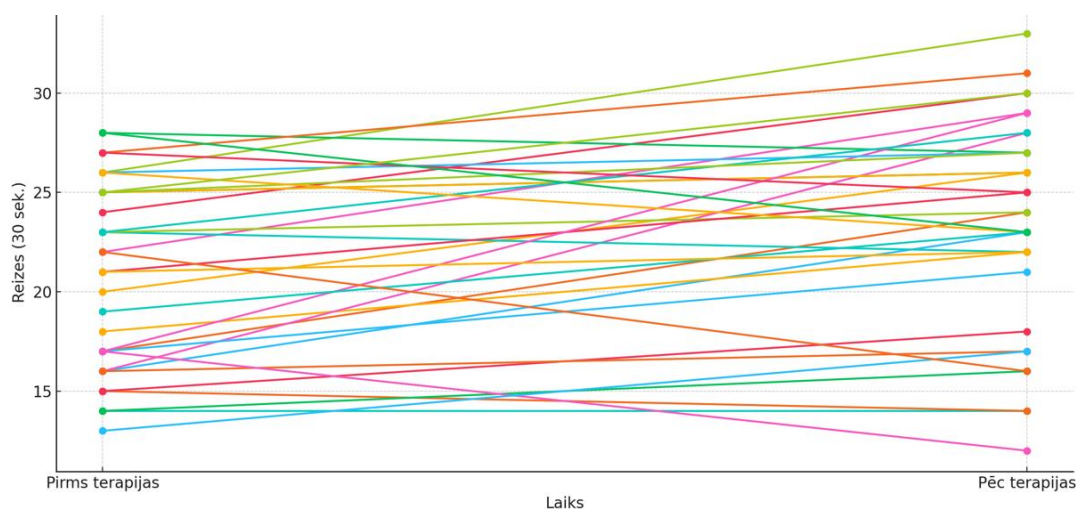
Analizējot 6 minūšu iešanas testa (6MWT) izmaiņas starp dažādiem audzēja apakštipiem, tika novērots, ka vidēji vislielākais distances pieaugums pēc terapijas bija pacientēm ar Luminal A audzēju apakštipu (+44.6 metri) un Luminal B, HER2– apakštipu (+25.25 metri), TNBC diagnozei +12.73 metri. Savukārt HER2+ grupā distances izmaiņas bija negatīvas (−30.0 metri) un Luminal B, HER2+ apakštipam −15.57 metri, norādot uz iespējamu mazāku ieguvumu no terapijas funkcionālajā izturībā. Tomēr, veicot vienfaktora dispersijas analīzi (ANOVA), rezultāti neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību starp diagnozes grupām attiecībā uz distances izmaiņām pēc terapijas ($F = 1.10$, $p = 0.375$). Tas nozīmē, ka, neskatoties uz atšķirīgajām vidējām izmaiņām dažādos audzēju apakštipos, šīs atšķirības statistiski nav nozīmīgas.(sk.3.2.7.att.)



3.2.7.att.6MWT distances izmaiņas dažādos audzēja apakštīpos.

Kā klīniski nozīmīga izmaiņa onkoloģijas pacientēm 6MWT pārbaudē ir apmēram 30 metru atšķirība.[42] Kopumā 15 pētījuma dalībniecēm tika novērots 6MWT uzlabojums, kas pārsniedza +30 metrus pēc terapijas. No 15 dalībniecēm 11 piederēja pie treniņa programmas grupas dalībniecēm un četras bija kontroles grupā. Veicot Chi-kvadrāta testu tika novērota statistiski nozīmīga atšķirība starp grupām ($\chi^2 = 4.29$, $p = 0.038$), kas norāda, ka dalībnieces treniņa programmas grupā būtiski biežāk sasniedza klīniski nozīmīgu uzlabojumu 6MWT testā, salīdzinot ar kontroles grupu.

SST fizikālās veikspējas tests tika izmantots, lai novērtētu apakšējo ekstremitāšu muskuļu spēku un funkcionālo izturību. Kopumā no visām analizētajām dalībniecēm ($n = 34$) 25 sievietēm (73.5%) pēc terapijas tika novērots SST (sēdus-stāvus) testa rezultātu uzlabojums, savukārt 8 sievietēm (23.5%) tika konstatēts rezultātu pasliktinājums. (sk.3.2.8.att.)



3.2.8.att.Individuālās izmaiņas 30 sekunžu sēdus-stāvus testā.

Vidējais izpildīto atkārtojumu pieaugums uzlabojušos dalībnieču grupā bija +4.44 reizes (30 sek.), bet to dalībnieču vidū, kurām novērots pasliktinājums, vidējais samazinājums bija -3.0 reizes.

Salīdzinot treniņprogrammas dalībnieču un kontroles grupas rezultātus tika novērotas atšķirības vidējā izpildījumu skaita pieaugumā. HIIT grupā vidējais SST rezultātu pieaugums pēc terapijas bija +4.00 atkārtojumi (30 sek.), un uzlabojums tika novērots 14 no 17 dalībniecēm (82.4%). Savukārt kontroles grupā vidējais pieaugums bija +1.12 atkārtojumi, un pozitīva dinamika tika konstatēta 11 no 17 dalībniecēm (64.7%).

Pētījuma dalībniecēm ar normālu KMI (<25) vidējais SST rezultātu pieaugums bija +3.29, savukārt pacientēm ar paaugstinātu KMI (≥ 25) uzlabojums bija +2.05 atkārtojumi.

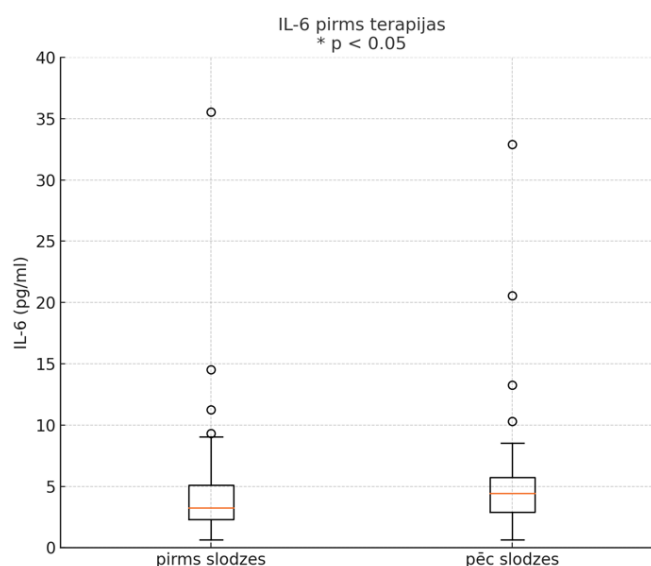
Lai novērtētu, vai pastāv statistiski nozīmīgas atšķirības Sēdus-Stāvus testa (SST) rezultātu izmaiņās starp dažādiem audzēja apakštipiem, tika veikts Kruskal–Wallis tests. Vidēji lielākās SST rezultātu izmaiņas pēc terapijas tika novērotas Luminal A apakštipa pacientēm (+5.00 reizes), kā arī TNBC (+3.64) un HER2+ (+3.33) grupās. Savukārt Luminal B, HER- grupā rezultātu pieaugums bija mazāks (+1.75), bet Luminal B, HER+ grupā tika konstatēta vidēji negatīva izmaiņu tendence (-0.29). Tomēr statistiskā analīze neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību starp diagnožu grupām ($H = 6.56$, $p = 0.161$).

3.3. Akūtas slodzes ietekme uz biomarkieru koncentrāciju

3.3.1. IL-6 un M-CSF koncentrāciju izmaiņas

Tika veikta pētījuma dalībnieku datu salīdzināšana starp biomarkieru IL-6 un M-CSF koncentrāciju asins serumā pirms un pēc akūtas aerobas slodzes katrā terapijas posmā – pirms terapijas un pēc terapijas atsevišķi.

Pēc Wilkoksona signed-rank testa tika iegūti rezultāti pirms terapijas pētījuma posmā IL-6 koncentrācijas mediāna un starpkvartīļu amplitūda pirms akūtas aerobas slodzes rādītāji bija 3.25 pg/ml (IQR: 1.85–4.63), savukārt pēc akūtas aerobas slodzes rādītāji palielinājās 4.45 pg/ml (IQR: 2.90–5.74), $p < 0.05$; (sk. 3.3.1.att.).

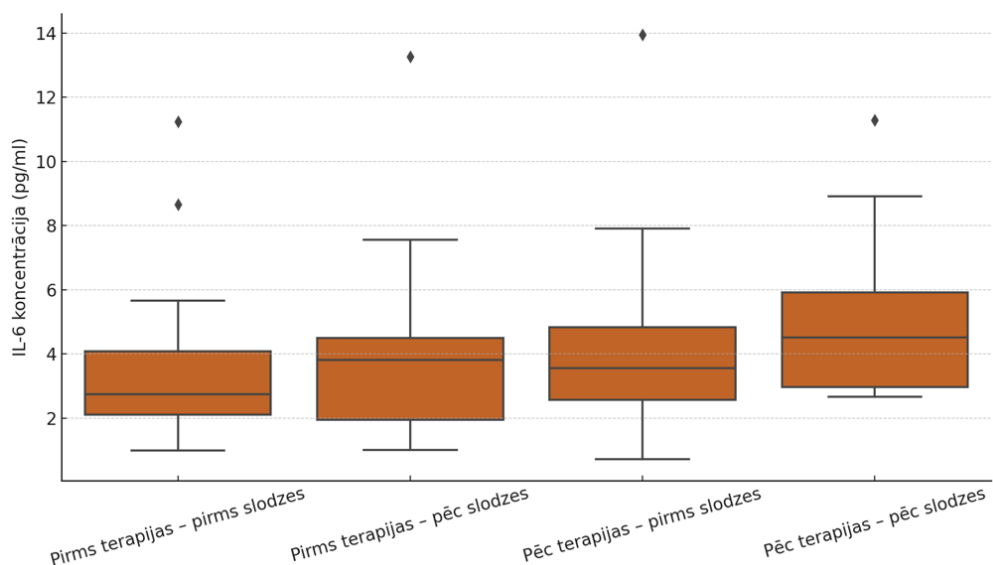


3.3.1.att. IL-6 koncentrācija pirms un pēc akūtas aerobas slodzes pirms terapijas.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

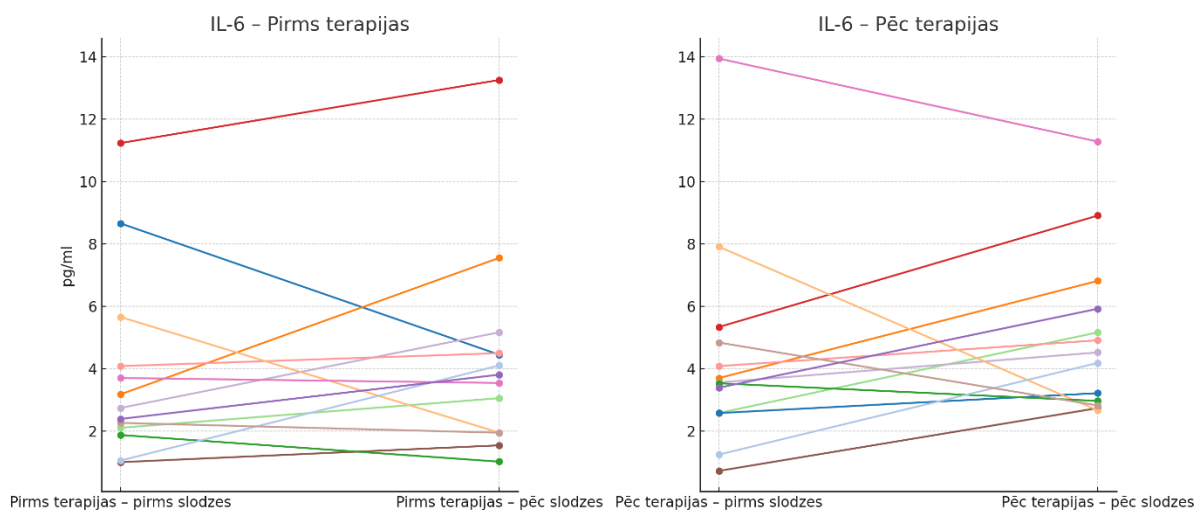
IL-6 koncentrācijas izmaiņas tika analizētas četros laika punktos – pirms un pēc akūtas slodzes, gan pirms, gan pēc terapijas, ņemot vērā tikai tās dalībnieces ($n = 13$), kurām bija pieejami visi četri mērījumi.

Pirms terapijas, pirms slodzes, IL-6 mediāna bija 2.74 pg/ml (IQR: 2.10–4.08). Pēc akūtas slodzes, šī vērtība pieauga līdz 3.81 pg/ml (IQR: 1.95–4.50), norādot uz miokīnu izdalīšanās aktivitāti slodzes ietekmē. Savukārt pēc terapijas, pirms slodzes, mediāna bija 3.56 pg/ml (IQR: 2.58–4.84), bet pēc slodzes – 4.52 pg/ml (IQR: 2.96–5.92). Kopumā novērojama tendence uz pakāpenisku IL-6 koncentrācijas pieaugumu gan terapijas ietekmē, gan atkārtoti reaģējot uz akūtu slodzi. Statistiskā analīze, izmantojot Friedmana atkārtoto mērījumu testu, neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības IL-6 koncentrācijās starp četriem laika punktiem ($\chi^2(3) = 6.63$, $p = 0.085$), lai gan tika novērota tendence uz pieaugošu koncentrāciju terapijas gaitā. (sk.3.3.2.att.)



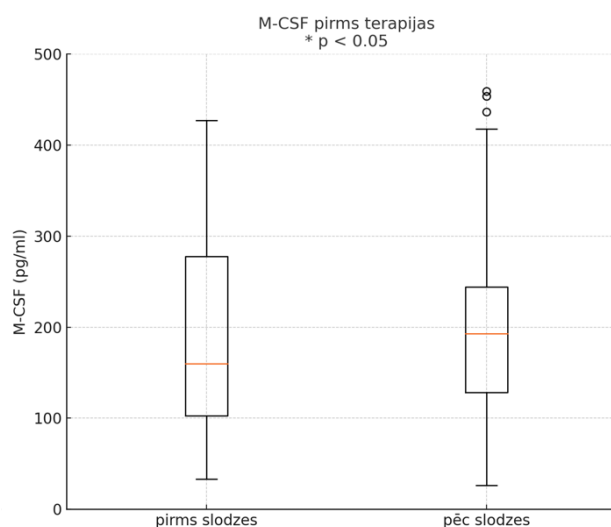
3.3.2.att. IL-6 koncentrācijas izmaiņas četros laika punktos (n=13).

Lai labāk novērtētu katra atsevišķa dalībnieka izmaiņas pirms un pēc akūtas aerobas slodzes tika izveidota savienoto punktu diagramma (sk.3.3.3.att.), kur katrs dalībnieks attēlots ar punktu “pirms” un “pēc” akūtas aerobas slodzes testa gan pirms, gan pēc terapijas un kāda ir tendence.



3.3.3.att. Individuālās IL-6 koncentrācijas izmaiņas visos laika posmos.

Pirms terapijas posmā M-CSF koncentrācija (pg/ml) mediānas rādītājs pirms akūtas aerobas slodzes bija 159.89 pg/ml (IQR: 102.79–277.84), pēc slodzes tas pieauga līdz 192.95. pg/ml (IQR: 128.45–244.29); $p < 0.05$. (skat. 3.3.4. att.).

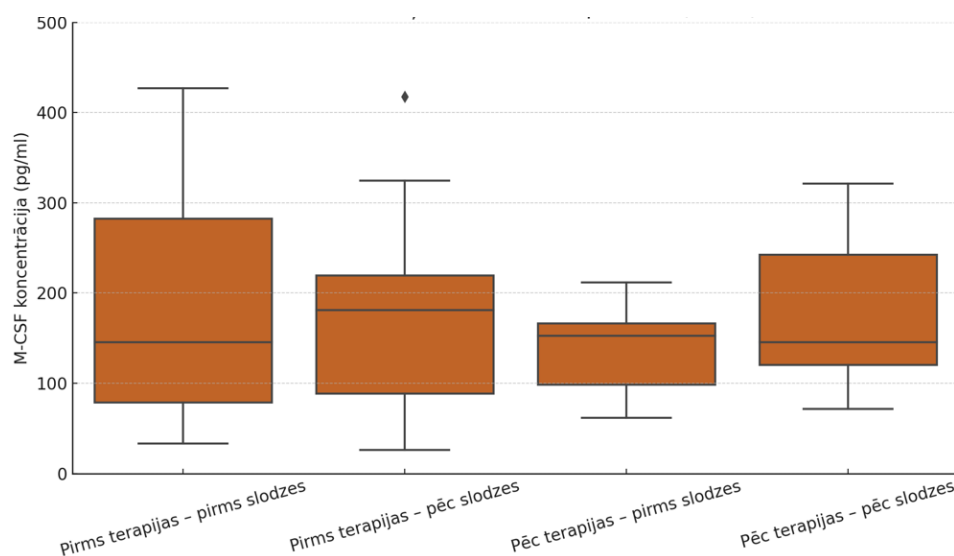


3.3.4.att. M-CSF koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc akūtas aerobas slodzes pirms terapijas.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

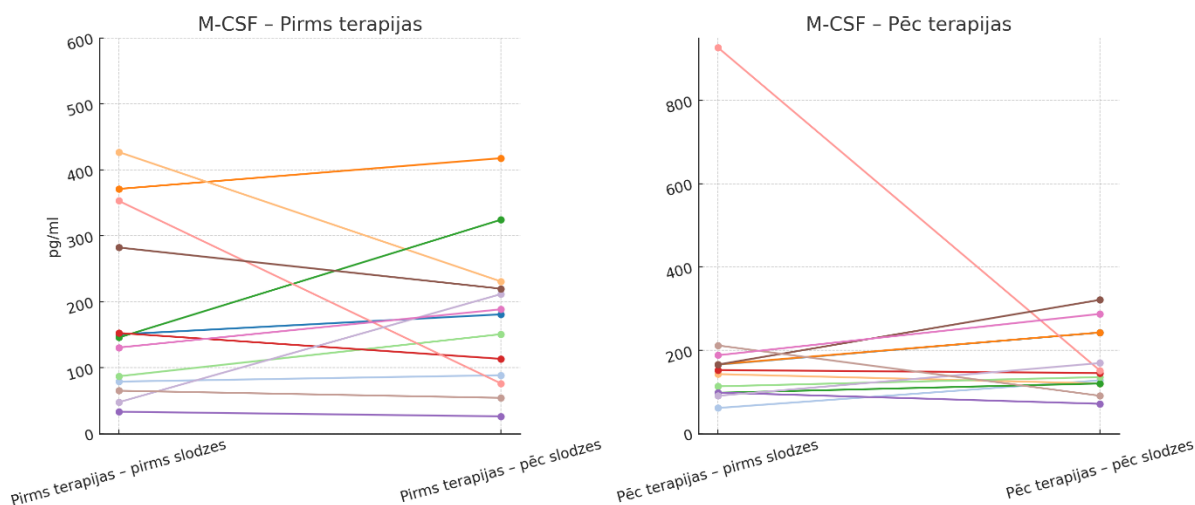
Lai novērtētu izmaiņas M-CSF koncentrācijā terapijas gaitā, analizēti četri mērījumu laika punkti – pirms un pēc akūtas slodzes, gan pirms, gan pēc terapijas – ņemot vērā tikai tās dalībnieces ($n = 13$), kurām bija pieejami visi attiecīgie dati.

Pirms terapijas, pirms slodzes, mediāna bija 145.64 pg/ml (IQR: 78.84–282.17). Pēc slodzes, M-CSF koncentrācija pieauga līdz 180.82 pg/ml (IQR: 88.49–219.66). Savukārt pēc terapijas mediāna pirms slodzes bija 152.52 pg/ml (IQR: 98.47–166.15), un pēc slodzes – 145.36 pg/ml (IQR: 120.24–242.60). Neskatoties uz novērotajām svārstībām, Friedmana atkārtoto mērījumu tests neliecināja par statistiski nozīmīgām atšķirībām starp četriem mērījumu laikiem ($\chi^2(3) = 1.88$, $p = 0.597$). (sk.3.3.5.att.)



3.3.5.att. M-CSF koncentrācijas izmaiņas četros laika punktos ($n=13$).

Tāpat kā ar biomarkieri IL-6, M-CSF biomarkiera koncentrāciju izmaiņām tika izveidota savienoto punktu diagramma visām 13 dalībniecēm visos laika posmos, lai parādītu individuālās izmaiņas katrai pētījuma dalībniecei. (sk.3.3.6.att.)



3.3.6.att. Individuālās M-CSF koncentrācijas izmaiņas visos laika posmos.

3.3.2. IL-6 un M-CSF analīze atkarībā no ķermeņa masas indeksa

Sadalot pētījuma dalībnieces divās grupās pēc KMI , dalībnieces, kuru $\text{KMI} < 25$ vs $\text{KMI} \geq 25$ $\text{KMI} < 25$ grupā bija 14 pētījuma dalībnieces, savukārt $\text{KMI} \geq 25$ grupā bija 29 dalībnieces pirms terapijas laika posmā. Tika salīdzināts vai starp grupām ir novērojama IL-6 un M-CSF koncentrāciju pieaugums asins serumā pēc akūtas aerobas slodzes gan pirms, gan pēc terapijas laika posmā. Tāpat arī katrai grupai savos ietvaros tika pārbaudīts vai ir novērojama atšķirība konkrētajā pētījuma laika posmā pirms un pēc akūtas aerobas slodzes.

Salīdzinot IL-6 koncentrācijas izmaiņas vienas KMI grupas ietvaros tika novērota statistiski nozīmīga atšķirība $\text{KMI} \geq 25$ grupā pirms terapijas pētījuma posmā akūtas aerobas slodzes ietekmē. IL-6 koncentrācija asinīs slodzes ietekmē mediāna palielinājās par 1.74 pg/ml, $p < 0.05$. Pilnu IL-6 koncentrācijas izmaiņas atšķirībā no KMI grupas skatīt 3.2.tab.

3.2.tab. IL-6 koncentrācijas pēc KMI grupu sadalījuma.

Terapija	Skaits, n	KMI grupa	Mediāna, IQR, pg/ml (pirms slodzes)	Mediāna, IQR, pg/ml (pēc slodzes)	p (Wilcoxon)
Pirms terapijas, pirms slodzes	14	<25	3.60 [2.29–4.53]	2.98 [2.41–4.48]	0.4263
Pirms terapijas, pēc slodzes	20	≥25	3.25 [2.36–5.54]	4.99 [3.81–6.28]	0.0004
Pēc terapijas, pirms slodzes	6	<25	3.89 [2.86–4.65]	4.06 [2.92–5.10]	0.8438
Pēc terapijas, pēc slodzes	7	≥25	3.53 [2.32–4.45]	4.52 [3.57–7.42]	0.2188

Izmantojot Mann-Whitney U testu starp grupām tika noskaidrots, vai starp KMI grupām ir novērojama statistiski nozīmīga atšķirība IL-6 koncentrācijas izmaiņās gan pirms terapijas laika posmā – pirms, pēc slodzes, gan pēc terapijas – pirms, pēc slodzes. Netika novērota statistiski ticami rezultātu atšķirības starp KMI grupām, taču pirms terapijas akūtas aerobas slodzes ietekmē KMI<25 grupā tika novērota tendence – robežvērtība IL-6 koncentrācijas izmaiņām, salīdzinot mediānu vērtību 4.99 pg/ml [3.81–6.28] ar 2.98 pg/ml [2.41–4.48], kur $p=0.0568$.

Salīdzinot M-CSF koncentrācijas izmaiņas vienas KMI grupas ietvaros, tāpat kā ar IL-6, tika novērota statistiski ticamas atšķirības KMI ≥25 grupā pirms terapijas pētījuma posmā pirms un pēc akūtas aerobas slodzes. M-CSF biomarkiera koncentrācijas mediāna šajā grupā akūtas aerobas slodzes ietekmē palielinājās par 42.42 pg/ml, $p<0.05$. Pilnu M-CSF koncentrācijas izmaiņas katrai grupai visos mērija posmos redzams 3.3.tab.

Pēc Mann-Whitney U testa veikšanas nevienā posmā netika starp KMI grupām novērota statistiski nozīmīga atšķirība M-CSF koncentrācijas izmaiņās.

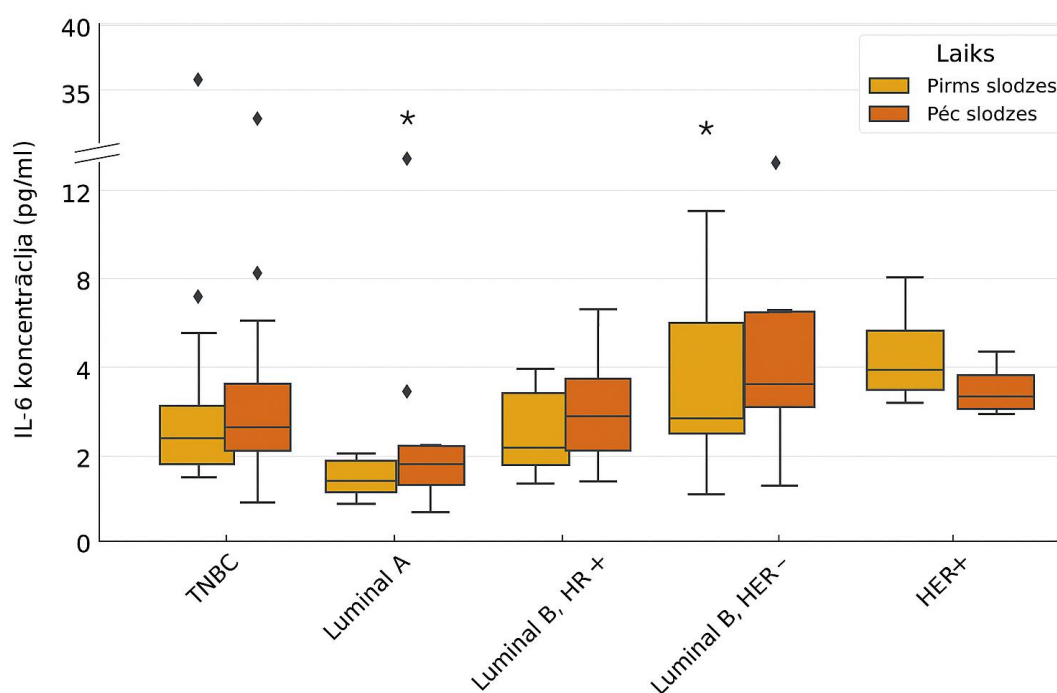
3.3.tab. M-CSF koncentrācijas pēc BMI grupu sadalījuma.

Terapija	Skaits, n	KMI grupa	Mediāna, IQR pg/ml (pirms slodzes)	Mediāna, IQR pg/ml (pēc slodzes)	p (Wilcoxon)
Pirms terapijas, pirms slodzes	14	<25	87.27 [122.27–279.33]	176.98 [105.47–230.57]	0.2958

Pirms terapijas, pēc slodzes	20	≥ 25	159.89 [97.95–268.15]	202.31 [150.71–268.40]	0.0008
Pēc terapijas, pirms slodzes	6	<25	159.03 [145.20–200.15]	132.80 [120.24–149.61]	0.4375
Pēc terapijas, pēc slodzes	7	≥ 25	113.42 [94.62–165.91]	169.32 [131.72–265.02]	0.0469

3.3.3. IL-6 un M-CSF analīze atkarībā no diagnozes apakštipa

Dati par IL-6 un M-CSF koncentrāciju tika sadalīti starp diagnozes grupām, un visām grupām. Tā kā diagnozēm Luminal B, HER-, TNBC grupām dati nav normālsadalīti un HER+ diagnozei ir tikai 3 pacienti, datu analīzei tika izmantotas mediānas ar starpkvartīļu vērtībām.



3.3.7.att. IL-6 koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc slodzes pirms terapijas starp diagnozēm.

* - statistiski būtiska atšķirība grupas ietvaros.

Tika noskaidrots vai katras diagnozes ietvaros ir statistiski ticami rezultāti pirms terapijas pirms un pēc akūtas aerobas slodzes. Salīdzinot biomarkķiera IL-6 koncentrācijas izmaiņas tika novērots, ka Luminal A diagnozes pacientēm pirms slodzes līmenis bija 2.24 pg/ml (IQR: 1.28 – 2.43), pēc slodzes IL-6 paaugstinās 2.86 pg/ml (IQR: 1.86 – 3.02), $p < 0.05$. Luminal B, HER- diagnozes pacientēm tika novērota statistiski nozīmīga atšķirība IL-6

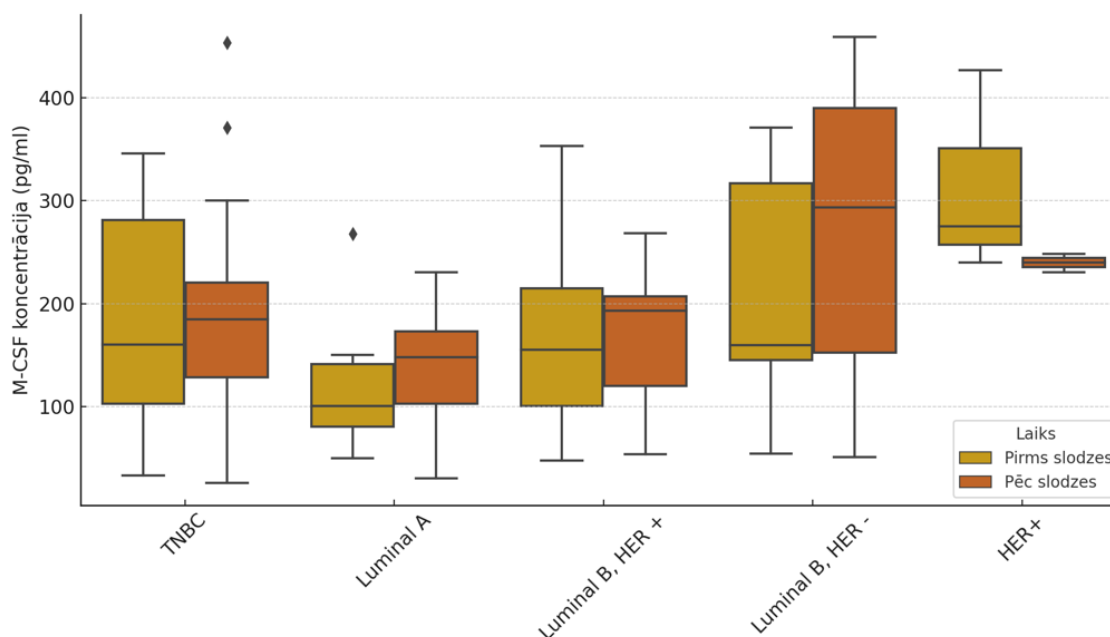
koncentrācijas izmaiņām akūtas slodzes ietekmē. Pirms slodzes koncentrācija bija 3.72 pg/ml (IQR: 3.21 – 7.29), pēc slodzes bija 5.08 pg/ml (IQR: 4.36 – 7.65), $p < 0.05$. HER+ diagnozes apakštīps vienīgais uzrādīja negatīvu tendenci IL-6 koncentrācijai pēc akūtas aerobas slodzes rezultātam mainoties no 5.54 pg/ml [5.09 – 7.1] uz 4.91 pg/ml [4.68 – 5.59] pēc slodzes. (sk.3.3.7.att.)

Lai izvērtētu akūtas aerobas slodzes ietekmi uz biomarkieru koncentrācijām asins plazmā, tika veikta atkārtoto mērījumu dispersijas analīze (Repeated Measure ANOVA) ar diagnozi kā starpgrupu faktoru. Laika efekts – pirms un pēc slodzes – bija statistiski nozīmīgs ($F = 8.769$, $p = 0.005$), norādot uz IL-6 koncentrācijas pieaugumu pēc fiziskas slodzes. Diagnozes efekts bija statistiski nozīmīgs ($F = 22.285$, $p < 0.001$), kas liecina, ka IL-6 koncentrācija kopumā atšķiras starp diagnožu grupām, taču veicot diagnožu pāru salīdzinājumu netika atrasts statistiski nozīmīgas atšķirības. Mijiedarbība starp laiku un diagnozi nebija nozīmīga ($F = 1.539$, $p = 0.211$), norādot, ka slodzes izraisītās izmaiņas bija līdzīgas visās diagnozēs.

IL-6 koncentrācijas atšķirības pirms akūtas slodzes starp dažādiem krūts audzēja molekulārajiem apakštipiem tika analizētas, izmantojot salīdzinājumu ar Rank testu (Wilcoxon's rank-sum test). Rezultāti uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības starp vairākām diagnozes grupām. Luminal A apakštipa dalībniecēm bija ievērojami zemākas IL-6 koncentrācijas salīdzinājumā ar HER2+ grupu ($Z = 2.324$, $p = 0.0201$), Luminal B (HER-) grupu ($Z = -2.513$, $p = 0.0120$) un TNBC grupu ($Z = -2.180$, $p = 0.0293$).

IL-6 koncentrācijas izmaiņas četru laika punktu griezumā tika analizētas, izmantojot atkārtoto dispersijas analīzi (Repeated Measures ANOVA) tām 13 pētījuma dalībniecēm, kurām bija pieejami visi četri IL-6 mērījumi: pirms terapijas pirms slodzes, pirms terapijas pēc slodzes, pēc terapijas pirms slodzes un pēc terapijas pēc slodzes. Statistiskās analīzes rezultāti neuzrādīja statistiski nozīmīgas izmaiņas IL-6 koncentrācijās starp šiem četriem laika punktiem, $F(3, 36) = 0.60$, $p = 0.617$.

Salīdzinot biomarkiera M-CSF koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc akūtas aerobas slodzes netika novērota statistiski būtiskas atšķirības katras krūts vēža apakštipa diagnozes ietvaros. Tika novērota tendence – robežvērtība diagnozei Luminal B, HER- grupā. M-CSF koncentrācija pirms slodzes šajā grupā bija 159.89 pg/ml (IQR: 145.5 – 316.73), pēc slodzes 293.27 pg/ml (IQR: 152.48 – 389.62), $p = 0.05$. HER+ grupai tika novērota M-CSF mediānas samazinājums no 274.87 pg/ml (IQR: 257.43–350.9) pirms slodzes līdz 240.0 pg/ml (IQR: 235.3–244.29) pēc slodzes. (sk.3.3.8.att.)



3.3.8.att. M-CSF koncentrācijas izmaiņas pirms un pēc slodzes pirms terapijas starp diagnozēm.

Izvērtējot M-CSF koncentrācijas izmaiņas akūtas aerobas slodzes ietekmē diagnozei esot kā faktoram, laika efekts nebija statistiski nozīmīgs ($F = 1.243$, $p = 0.272$), kas nozīmē, ka fiziskā slodze būtiski neietekmēja M-CSF koncentrāciju. Diagnozes efekts bija statistiski nozīmīgs ($F = 8.596$, $p < 0.001$), norādot uz atšķirībām M-CSF koncentrācijā starp dažādiem krūts vēža apakštipiem. Veicot pāru salīdzināšanu starp diagnozēm netika novērota statistiski nozīmīga atšķirība, to varētu skaidrot ar lielu iekšgrupas variāciju un ierobežotu paraugu skaitu. Savukārt mijiedarbība starp laiku un diagnozi nebija nozīmīga ($F = 1.575$, $p = 0.201$).

M-CSF koncentrācijas pirms terapijas pirms slodzes – bāzes rādītājs tika salīdzināts starp dažādiem krūts vēža diagnozes molekulārajiem apakštipiem, izmantojot Wilcoxon rang testu. Statistiski nozīmīgas atšķirības tika novērotas starp Luminal A un HER2+ grupām ($Z = -2.066$, $p = 0.0476$), kur Luminal A grupai raksturīgas zemākas M-CSF koncentrācijas. Šis rezultāts var liecināt par zemāku M-CSF biomarkiera izdalīšanos Luminal A apakštipa pacientēm salīdzinājumā ar HER2+ apakštipu, kas potenciāli var būt saistīts ar atšķirīgu audzēja mikrovides iekaisuma profilu. Pārējie pāru salīdzinājumi starp diagnožu grupām neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0.05$), kas var liecināt, ka M-CSF bāzes līmeņa izmaiņas starp lielāko daļu molekulāro apakštipu nav izteiktas vai arī ir nepieciešams lielāks paraugu skaits šādu atšķirību identificēšanai.

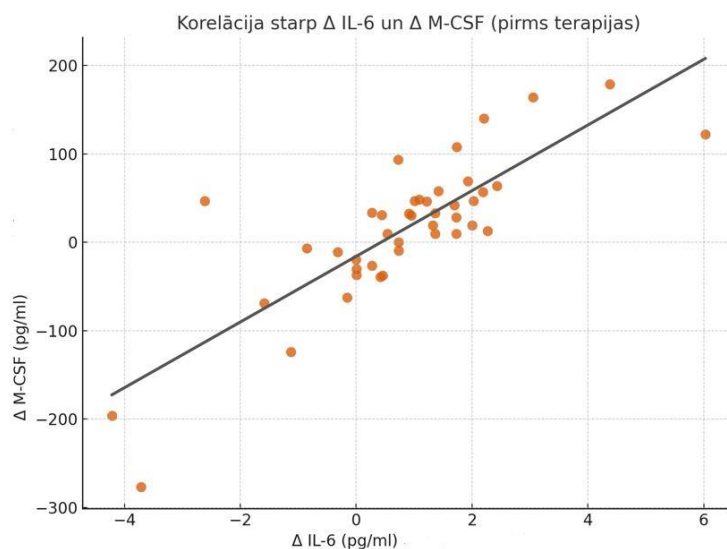
Atkārtotu mērījumu dispersijas analīze (Repeated Measures ANOVA), kas tika veikta 13 dalībniecēm, kurām bija pieejami dati par M-CSF koncentrāciju četros laika punktos (pirms

terapijas – pirms un pēc slodzes, un pēc terapijas – pirms un pēc slodzes), neuzrādīja statistiski nozīmīgas izmaiņas biomarkķiera līmenī. Rezultāti liecina, ka M-CSF koncentrācija būtiski nemainījās atkarībā no terapijas un akūtas slodzes ietekmes: $F(3, 36) = 0.107$, $p = 0.956$. Šie dati norāda, ka kopumā M-CSF līmenis saglabājās salīdzinoši vienveidīgs visos izpētes laika punktos.

3.4.Korelācijas analīze

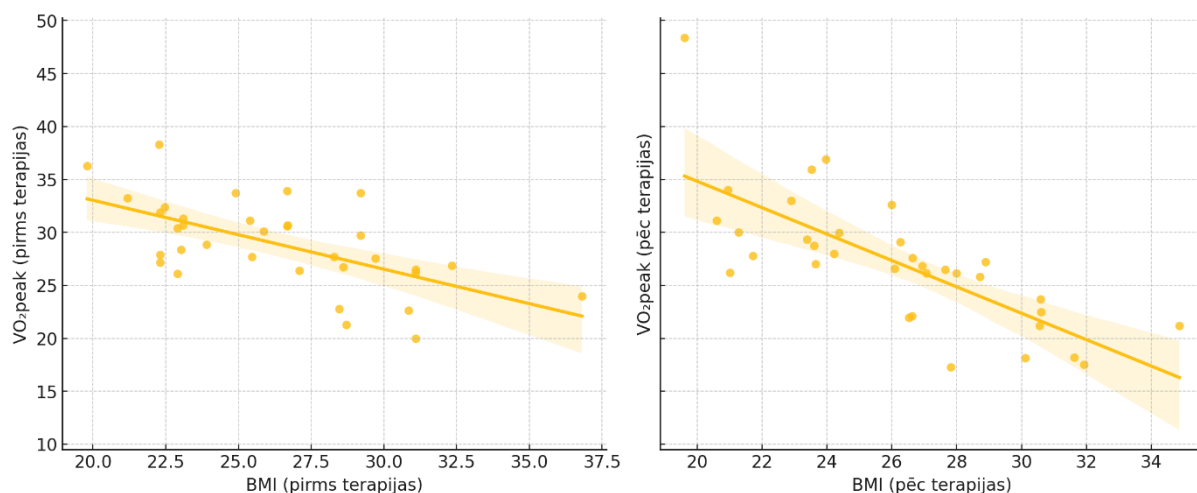
Tika veikta Spearmana korelācijas analīze, lai izvērtētu savstarpējo saistību starp miokīniem IL-6 un M-CSF dažādos laika posmos. Rezultāti uzrādīja stabili augstu pozitīvu korelāciju starp šo divu miokīnu koncentrācijām visos četros mērījumu laika punktos, kā arī to izmaiņām terapijas rezultātā (delta vērtības). Pirms terapijas, pirms akūtas slodzes: IL-6 vs M-CSF $\rightarrow r = 0.793$, $p < 0.0001$, pirms terapijas, pēc akūtas slodzes: IL-6_2 vs M-CSF_2 $\rightarrow r = 0.740$, $p < 0.0001$, pēc terapijas, pirms slodzes: IL-6_3 vs M-CSF_3 $\rightarrow r = 0.701$, $p = 0.0052$. Pēc terapijas, pēc akūtas slodzes: IL-6 vs M-CSF $\rightarrow r = 0.605$, $p = 0.0284$.

Korelācijas analīze starp biomarkķieru izmaiņām pirms terapijas atklāja statistiski nozīmīgu pozitīvu saistību starp IL-6 un M-CSF koncentrācijas izmaiņām, ko noteica pirms un pēc akūtas fiziskas slodzes. Spearmana korelācijas koeficients $r = 0.644$ ($p = 0.013$) liecina par vidēji spēcīgu pozitīvu korelāciju, kas nozīmē, ka dalībniecēm ar lielāku IL-6 koncentrācijas pieaugumu pēc slodzes parasti tika novērots arī lielāks M-CSF līmeņa pieaugums. (sk.3.4.1.att.)



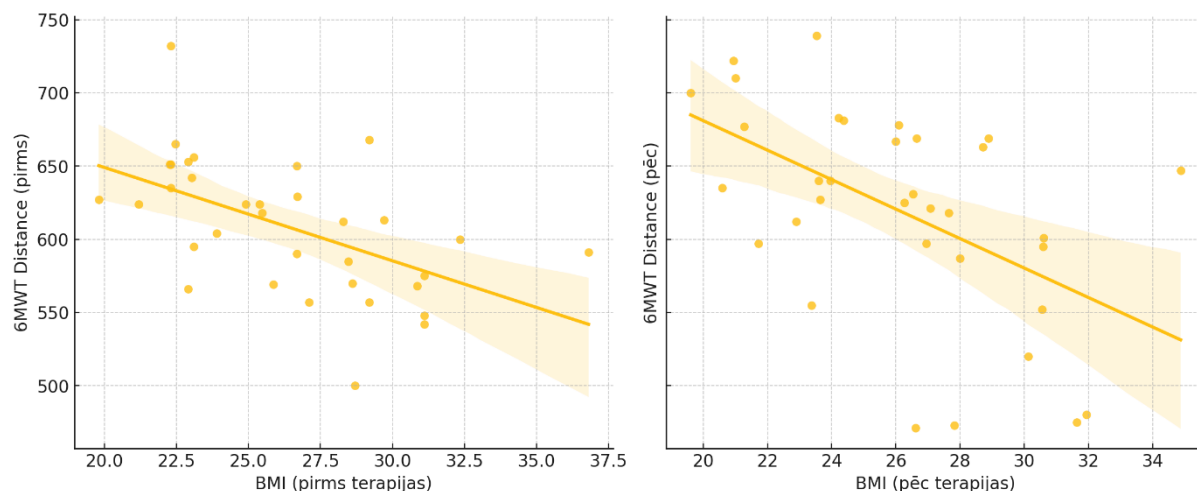
3.4.1..att. IL-6 un M-CSF korelācija pirms terapijas pēc akūtas slodzes.

Tika veikta Spearmana korelācijas analīze, lai izvērtētu saistību starp dalībnieku ĶMI un dažādiem miokīnu un fiziskās veiktspējas parametriem. Statistiski nozīmīga negatīva korelācija tika konstatēta starp ĶMI un VO₂peak gan pirms, gan pēc terapijas. VO₂peak pirms terapijas: konstatēta spēcīga negatīva korelācija ar ĶMI ($r = -0.616$, $p = 0.0001$), norādot, ka lielāks ĶMI ir saistīts ar zemāku aerobās kapacitātes līmeni. VO₂peak pēc terapijas ar ĶMI grupu korelācija saglabājās būtiska un negatīva ($r = -0.531$, $p = 0.0026$), kas nozīmē, ka šī saistība pastāv arī pēc ārstēšanas. (sk.3.4.2.att.)



3.4.2.att. Korelācija starp ĶMI un VO₂peak rādītājiem.

6MWT Distance pirms terapijas tika novērota vidēji spēcīga negatīva korelācija ar ĶMI ($r = -0.525$, $p = 0.0034$), norādot, ka pacientiem ar lielāku ĶMI tiek veikts īsāks attālums. 6MWT Distance pēc terapijas korelācija ar KMI grupu saglabājās ($r = -0.487$, $p = 0.0075$). (sk.3.4.3.att.)



3.4.3.attēls. Korelācija starp ĶMI un 6MWT testu.

Pārējiem rādītājiem, tostarp delta IL-6 un delta M-CSF, statistiski nozīmīgas korelācijas ar KMI netika konstatētas ($p > 0.05$), lai gan IL-6 izmaiņām pēc akūtas slodzes tika novērota tendence uz pozitīvu saistību ($r = 0.308$, $p = 0.0764$).

4. Diskusija

Pētījumā iegūtie rezultāti sniedz vērtīgu ieskatu par miokīnu IL-6 un M-CSF izmaiņām asins serumā krūts vēža pacientēm pirms un pēc akūtas aerobas slodzes gan pirms, gan pēc terapijas. Rezultāti apstiprina pētījumā izvirzīto hipotēzi, ka akūta aeroba slodze var būtiski ietekmēt miokīnu koncentrācijas, īpaši attiecinot uz imūnās sistēmas aktivāciju un potenciālu ietekmi uz audzēja mikrovidi.

Fiziskās veikspējas testu rezultāti norādīja uz būtisku uzlabojumu pacientu funkcionālajos rādītājos pēc terapijas, īpaši starp tām dalībniecēm, kuras pētījuma laikā piedalījās strukturētā fizisko aktivitāšu programmā. Treniņu grupas pacientēm bija novērojami statistiski ticami lielāki uzlabojumi $VO_2\text{peak}$ un sešu minūšu iešanas testa (6MWT) rezultātos, salīdzinot ar kontroles grupas dalībniecēm, kuras terapijas laikā neveica regulāras fiziskās aktivitātes. Šajā pētījumā Sit-to-Stand testā iegūtais rezultāts bija 21 reize, kas ir līdzvērtīgs rezultāts, kurš tika aprakstīts 2022. gada publicētā pētījumā, kur krūts vēža pacientes šo testu varēja izdarīt 20 reizes. Salīdzinot 6MWT rezultātu šajā darbā vidējais rādītājs bija 612 metri, savukārt citos pētījumos ir minēts vidēji 606 metri.[44]

Papildus tika konstatēts, ka ķermeņa masas indeksam (KMI) ir būtiska ietekme uz veikspējas rādītājiem – pacientēm ar normālu KMI ($<25 \text{ kg/m}^2$) bija augstāka aerobā kapacitāte un labāki 6MWT rezultāti gan pirms, gan pēc terapijas, salīdzinot ar pacientēm ar paaugstinātu KMI . Tika noteikta korelācijas, kas parāda, ka KMI ietekmē fiziskās veikspējas rezultātus. Šie rezultāti izceļ nepieciešamību pēc individualizētas fiziskās slodzes programmas, īpaši pacientēm ar paaugstinātu ķermeņa masas indeksu.

Salīdzinoši ar iepriekšējiem pētījumiem, pēc fiziskas slodzes IL-6 koncentrācija serumā pētījumā palielinājās vidēji par $+0.8 \text{ pg/ml}$ pirms terapijas un par $+0.6 \text{ pg/ml}$ pēc terapijas. Lai gan koncentrācijas izmaiņas nav tik izteiktas kā literatūrā aprakstītajos gadījumos, kur IL-6 var pieaugt pat 100 reizes [23], to varētu izskaidrot ar vairākiem faktoriem, tostarp pacientu fizisko stāvokli, muskuļu masu, veiktās slodzes intensitāti un īslaicīgo protokolu. Piemēram, Pedersen et al. (2003) apraksta ievērojamu IL-6 pieaugumu izturības sportistiem [41], savukārt krūts vēža pacientēm ar pavājinātu fizisko sagatavotību IL-6 izdalīšanās reakcijas var būt samazinātas. Tika arī apskatīts, ka 2017. gada pētījumā IL-6 koncentrācija veseliem cilvēkiem atšķirībā no krūts vēža pacientēm pēc fiziskas slodzes pieauga 2,4 reizes vairāk nekā onkoloģijas pacientiem.[35]

IL-6 loma imūnās atbildes reakcijās ir divpusēja. No vienas puses, IL-6 tiek klasificēts kā pro-iekaisuma citokīns, kas audzēja mikrovidē var veicināt proliferāciju, metastāzes un imūnās sistēmas nomākšanu [30;31]. No otras puses, fiziskas slodzes inducēts IL-6 darbojas kā

miokīns, kas var stimulēt pretiekaisuma citokīnu (piemēram, IL-10) izdalīšanos un uzlabot imūnās sistēmas efektivitāti [23;32]. Šīs kontekstuālās izmaiņas uzrāda, ka pat salīdzinoši neliels IL-6 pieaugums var radīt nozīmīgas izmaiņas imūnā reakcijā pret audzēju. Kā arī 2022. gada pētījumā tika novērots, ka palielinoties IL-6 koncentrācijai asinīs par 5,7%, izdalītais IL-6 samazina vēžu šūnu dzīvotspēju *in vitro* apstākļos.[36]

Bija novērotas M-CSF koncentrācijas izmaiņas pēc akūtas aerobas slodzes, lai gan statistiski nozīmīgu rezultātu tas nesasniedza, tika sasniegta robežvērtība. Ja nākotnes pētījumos tiktu piesaistīts lielāks pacienšu skaits, tad sasniedzot vajadzīgo jaudu iespējams tiktu novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības M-CSF biomarkieru izdalīšanā. Šie rezultāti var liecināt, ka M-CSF reakcija uz slodzi var tikt modulēta arī terapijas gaitā vai ar pacienta vispārējo veselības stāvokli.

M-CSF biomarkiera koncentrācija veseliem cilvēkiem ar paaugstinātu KMI pēc akūtas aerobas slodzes palielinājās par 13%. Mūsu veiktajā pētījumā krūts vēža pacientes, kuras bija ar paaugstinātu KMI M-CSF koncentrācija pēc slodzes palielinājās par 12%.[40]

Literatūrā aprakstītas M-CSF funkcijas ir divējādas: tas var aktivizēt M2 makrofāgus, veicinot audzēja augšanu [37], taču muskuļu šūnu inducētais M-CSF var stimulēt M1 makrofāgus, kas darbojas pret audzēju.[38] Šīs pretrunas parāda nepieciešamību pēc turpmākiem pētījumiem par M-CSF darbības mehānismiem atkarībā no konteksta un izcelsmes. Šī pētnieciskā darba rezultāti papildina šo diskusiju, liekot domāt, ka fiziskās slodzes inducētais M-CSF var būt saistīts ar pozitīvām imūnās sistēmas izmaiņām.

Salīdzinot šajā pētījumā iegūtās IL-6 un M-CSF koncentrācijas ar iepriekšējā literatūrā aprakstītajiem datiem, redzams, ka miera stāvoklī noteiktās koncentrācijas pirms slodzes ir zemākas nekā ziņots pētījumos ar veseliem indivīdiem, sportistiem. Hojman et al. (2018) un Manole et al. (2018) apraksta, ka IL-6 koncentrācija ir būtiski augstāka pēc intensīvas fiziskas slodzes, atspoguļojot miokīnu izdalīšanos no skeleta muskuļiem fizioloģiski veselā organismā. [19; 20]. Turpretim šajā darbā analizētās IL-6 un M-CSF koncentrācijas tika noteiktas miera stāvoklī, gan pirms terapijas, gan pēc tās gan pirms, gan pēc akūtas slodzes, atspoguļojot klīnisko bāzes līmeni onkoloģiskām pacientēm. Šo koncentrāciju relatīvi zemā vērtība salīdzinājumā ar iepriekš minētajiem pētījumiem ir loģiska, ņemot vērā dalībnieču veselības stāvokli, iespējami ierobežoto fizisko slodzi un ārstēšanas fonu. Šāda konstatētā atšķirība tikai apstiprina pētījuma nozīmību, jo atspoguļo realitāti klīniskās prakses pacientu grupās.

Iepriekšējie pētījumi liecina, ka krūts vēža molekulārajiem apakštīpiem piemīt atšķirīgas miokīnu izdalīšanās īpašības. Literatūrā aprakstīts, ka Luminal B HER pozitīvais apakštīps miera stāvoklī var uzrādīt augstāku IL-6 un IL-8 sekrēciju, kas saistīta ar HER2 receptoru aktivitāti un ietekmi uz imūno mikrovidi. Savukārt TNBC tiek raksturots ar

samazinātu citokīnu produkciju un imūnsupresīvu profilu. [42] Atšķirībā no šiem novērojumiem, šajā pētījumā izteiktākas IL-6 un M-CSF koncentrācijas izmaiņas tika novērotas Luminal B HER negatīvās grupas pacientēm, īpaši pēc akūtas fiziskās slodzes. Šis rezultāts var norādīt uz to, ka arī HER-negatīvos luminal apakštipos pastāv spēja inducēt izteiktu miokīnu atbildi, iespējams, estrogēna receptoru vai citu intracelulāro mehānismu ietekmē. Savukārt HER pozitīvajā grupā šajā pētījumā miokīnu koncentrācijas pēc slodzes samazinājās, kas var liecināt par atšķirīgu adaptīvu muskuļu reakciju atbildes reakciju šajā apakštipā. Šīs novērotās atšķirības uzsver molekulāro apakštipu potenciāli nozīmīgo lomu miokīnu reakcijā uz fizisku slodzi, kas var būtiski ietekmēt personalizētu pieeju fiziskās rehabilitācijas plānošanā onkoloģijā.

Pētījumā tika analizēta arī krūts vēža pacientu atkarība pēc ķermeņa masas indeksa, lai izvērtētu tā iespējamo ietekmi uz miokīnu izdalīšanos pēc akūtas fiziskas slodzes un fiziskās veikspējas rādītājiem. Citā pētījumā veselām dalībniecēm ar paaugstinātu KMI tika novērots samazināts miokīna IL-10 izdalīšanās miera stāvoklī, un šo miokīnu pieaugums pēc fiziskas slodzes bija mazāk izteikts. [43] Šie pētījuma rezultāti apstiprināja, ka pacientēm ar normālu KMI miera stāvoklī IL-6 koncentrācija bija augstākā koncentrācijā, nekā ar $KMI \geq 25$, savukārt pretēju rezultātu uzrādīja M-CSF rādītājs.

Šī pētījuma rezultāti liecina par nepieciešamību ņemt vērā KMI ne tikai kā riska faktoru slimības progresijai, bet arī kā nozīmīgu mainīgo, kas ietekmē miokīnu atbildes reakciju uz fizisku slodzi un rehabilitācijas potenciālu.

Diskusijas rezultātā var izvirzīt jaunu hipotēzi: akūta aeroba slodze izraisa specifisku pretiekaisuma un imūnās atbildes miokīnu profilu, kas var pozitīvi ietekmēt audzēja mikrovidi un pacientu klīnisko stāvokli. Turpmākos pētījumos būtu vēlams pētīt plašāku miokīnu spektru (piem., IL-10, IL-15), iekļaut kontroles grupu un analizēt ilgtermiņa fiziskās aktivitātes ietekmi, kā arī piesaistīt lielāku pacientu grupu, apskatīt tikai konkrētus krūts vēža molekulāros apakštipus.

Noslēgumā jāsecina, ka pētījumā iegūtie rezultāti apstiprina izvirzīto hipotēzi, norādot uz akūtas aerobas slodzes ietekmi uz IL-6 un M-CSF koncentrācijām. Šīs izmaiņas liecina par iespējamu pozitīvu ietekmi uz imūnās sistēmas darbību un audzēja mikrovidi, kas saskan ar citu autoru novērojumiem. Iegūtie dati ir nozīmīgs solis uz personalizētas rehabilitācijas izstrādi onkoloģijas pacientiem.

5. Secinājumi

1. Akūtas slodze pirms terapijas krūts vēža pacientēm izraisa IL-6 un M-CSF koncentrācijas būtisku pieaugumu, savukārt, pēc terapijas atbilde uz akūto slodzi ir mazāka.
2. Salīdzinot bazālās koncentrācijas pirms un pēc neoadjuvantas ķīmijterapijas, tika novērota pozitīva tendence IL-6 un M-CSF koncentrācijas izmaiņām, nesasniedzot statistiski nozīmīgus rezultātus.
3. Pacientēm ar paaugstinātu ķermeņa masas indeksu ($\text{KMI} \geq 25$) novērota tendence uz izteiktāku IL-6 un M-CSF izdalīšanos pēc fiziskas slodzes, salīdzinot ar pacientēm ar normālu KMI.
4. Tika novērotas tendences, kas liecina, ka miokīnu IL-6 un M-CSF izmaiņas pēc akūtas slodzes var atšķirties starp krūts vēža molekulārajiem apakštipiem, piemēram, HER2+ grupā biomarkieru koncentrācijas pēc slodzes samazinājās, savukārt Luminal B, HER2-novērojams biomarkieru koncentrācijas palielinājās.
5. Tika identificētas statistiski nozīmīga korelācijas starp IL-6 un M-CSF miokīnu izdalīšanos, palielinoties IL-6 koncentrācijai, proporcionāli palielinās M-CSF koncentrācija gan miera stāvoklī, gan pēc akūtas aerobas slodzes.
6. Starp KMI un fiziskās darba spējas testu rezultātiem pastāv statistiski nozīmīgas korelācijas, palielinoties KMI samazinās fiziskās veiktspējas rezultāti.

Literatūras saraksts

1. World Health Organization. *Breast cancer: Fact sheet* [Internet]. Geneva: WHO; 2024 [atsauce 06.03.2025.]. Pieejams internetā: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
2. World Health Organization. Cancer Geneva: WHO; 2022 [atsauce 06.03.3035.] Pieejams internetā: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. Slimību profilakses un kontroles centrs. (2023). Vēža reģistra dati par 2022. gadu.OECD (2023), Valstu vēža profili: Latvija 2023, EU Country Cancer Profiles, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/57ac2732-lv>.
4. Daly MB, Pal T, Berry MP, Buys SS, Dickson P, Domchek SM, Elkhany A, Friedman S, Goggins M, Hutton ML; CGC; Karlan BY, Khan S, Klein C, Kohlmann W; CGC; Kurian AW, Laronga C, Litton JK, Mak JS; LCGC; Menendez CS, Merajver SD, Norquist BS, Offit K, Pederson HJ, Reiser G; CGC; Senter-Jamieson L; CGC; Shannon KM, Shatsky R, Visvanathan K, Weitzel JN, Wick MJ, Wisinski KB, Yurgelun MB, Darlow SD, Dwyer MA. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2021 Jan 6;19(1):77-102. doi: 10.6004/jnccn.2021.0001. PMID: 33406487.
5. WHO Classification of Tumors Editorial Board, ed. WHO classification of tumors, 5th edition – Breast tumors. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2019
6. Lifestyle and Breast Cancer. (2023). *National Cancer Institute*.
7. Cserni G. Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. Pathologica. 2020 Mar;112(1):25-41. doi: 10.32074/1591-951X-1-20. PMID: 32202537; PMCID: PMC8138497
8. Gutierrez C, Schiff R. HER2: biology, detection, and clinical implications. Arch Pathol Lab Med. 2011 Jan;135(1):55-62. doi: 10.5858/2010-0454-RAR.1. PMID: 21204711; PMCID: PMC3242418
9. Orrantia-Borunda E, Anchondo-Nuñez P, Acuña-Aguilar LE, et al. Subtypes of Breast Cancer. In: Mayrovitz HN, editor. Breast Cancer [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2022 Aug 6. Chapter 3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583808/> doi: 10.36255/exon-publications-breast-cancer-subtypes
10. Wolmark N, Mamounas EP, Baehner FL, Butler SM, Tang G, Jamshidian F, Sing AP, Shak S, Paik S. Prognostic Impact of the Combination of Recurrence Score and

- Quantitative Estrogen Receptor Expression (ESR1) on Predicting Late Distant Recurrence Risk in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer After 5 Years of Tamoxifen: Results From NRG Oncology/National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-28 and B-14. *J Clin Oncol*. 2016 Jul 10;34(20):2350-8. doi: 10.1200/JCO.2015.62.6630. Epub 2016 May 23. PMID: 27217450; PMCID: PMC4981975
11. Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, Curigliano G, Colleoni M, Dellapasqua S, Pruneri G, Mastropasqua MG, Luini A, Bassi F, Pagani G, Viale G, Goldhirsch A. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res*. 2014 Jun 20;16(3):R65. doi: 10.1186/bcr3679. PMID: 24951027; PMCID: PMC4095689.
 12. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018 Jun;127(2):175-186. doi: 10.1007/s00412-018-0659-8. Epub 2018 Jan 10. PMID: 29322240; PMCID: PMC5945335.
 13. Shirman Y, Lubovsky S, Shai A. HER2-Low Breast Cancer: Current Landscape and Future Prospects. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2023 Aug 14;15:605-616. doi: 10.2147/BCTT.S366122. PMID: 37600670; PMCID: PMC10439285.
 14. Z, Koudelakova V, Trojanec R, Hajduch M. Genetic Markers in Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2018 Oct;18(5):e841-e850. doi: 10.1016/j.clbc.2018.07.023. Epub 2018 Aug 4. PMID: 30146351
 15. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.
 16. Pizot C, Boniol M, Mullie P, Koechlin A, Boniol M, Boyle P, Autier P. Physical activity, hormone replacement therapy and breast cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. *Eur J Cancer*. 2016 Jan;52:138-54. doi: 10.1016/j.ejca.2015.10.063. Epub 2015 Dec 11. PMID: 26687833.
 17. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports*. 2015 Dec;25 Suppl 3:1-72. doi: 10.1111/sms.12581. PMID: 26606383.
 18. Campbell KL, Winters-Stone KM, Wiskemann J, May AM, Schwartz AL, Courneya KS, Zucker DS, Matthews CE, Ligibel JA, Gerber LH, Morris GS, Patel AV, Hue TF, Perna FM, Schmitz KH. Exercise Guidelines for Cancer Survivors: Consensus Statement from International Multidisciplinary Roundtable. *Med Sci Sports Exerc*.

- 2019 Nov;51(11):2375-2390. doi: 10.1249/MSS.0000000000002116. PMID: 31626055; PMCID: PMC8576825.
19. Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell Metab.* 2018 Jan 9;27(1):10-21. doi: 10.1016/j.cmet.2017.09.015. Epub 2017 Oct 19. PMID: 29056514.
 20. Manole, E., et al. (2018) Myokines as Possible Therapeutic Targets in Cancer Cachexia. *Journal of Immunology Research*, 2018, Article ID: 8260742. <https://doi.org/10.1155/2018/8260742>
 21. Hoffmann C, Weigert C. Skeletal Muscle as an Endocrine Organ: The Role of Myokines in Exercise Adaptations. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017 Nov 1;7(11):a029793. doi: 10.1101/cshperspect.a029793. PMID: 28389517; PMCID: PMC5666622.
 22. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Apr 3;8(8):457-65. doi: 10.1038/nrendo.2012.49. PMID: 22473333.
 23. Díaz BB, González DA, Gannar F, Pérez MCR, de León AC. Myokines, physical activity, insulin resistance and autoimmune diseases. *Immunol Lett.* 2018 Nov;203:1-5. doi: 10.1016/j.imlet.2018.09.002. Epub 2018 Sep 5. PMID: 30194964.
 24. Cameron MJ, Kelvin DJ. Cytokines, Chemokines and Their Receptors. In: *Madame Curie Bioscience Database [Internet]*. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6294/>
 25. Campbell JP, Turner JE. Debunking the Myth of Exercise-Induced Immune Suppression: Redefining the Impact of Exercise on Immunological Health Across the Lifespan. *Front Immunol.* 2018 Apr 16;9:648. doi: 10.3389/fimmu.2018.00648. PMID: 29713319; PMCID: PMC5911985.
 26. R, Reljic D, Herrmann HJ, Neurath MF, Hack CC, Beckmann MW, Zopf Y. The Influence of Physical Training on Breast Cancer: The Role of Exercise-Induced Myokines in Regulating Breast Cancer Cell Growth and Survival. *Int J Mol Sci.* 2024 Oct 23;25(21):11379. doi: 10.3390/ijms252111379. PMID: 39518934; PMCID: PMC11547039.
 27. Lee Y, Park S, Park S, Kwon HJ, Lee SH, Kim Y, Kim JH. Exercise affects high-fat diet-stimulated breast cancer metastasis through irisin secretion by altering cancer stem cell properties. *Biochem Biophys Rep.* 2024 Mar 13;38:101684. doi: 10.1016/j.bbrep.2024.101684. PMID: 38511188; PMCID: PMC10950695.

28. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015 May;16(5):448-57. doi: 10.1038/ni.3153. Erratum in: *Nat Immunol.* 2017 Oct 18;18(11):1271. doi: 10.1038/ni1117-1271b. PMID: 25898198.
29. Taniguchi K, Karin M. IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Semin Immunol.* 2014 Feb;26(1):54-74. doi: 10.1016/j.smim.2014.01.001. Epub 2014 Feb 16. PMID: 24552665.
30. Sasser AK, Sullivan NJ, Studebaker AW, Hendey LF, Axel AE, Hall BM. Interleukin-6 is a potent growth factor for ER-alpha-positive human breast cancer. *FASEB J.* 2007 Nov;21(13):3763-70. doi: 10.1096/fj.07-8832com. Epub 2007 Jun 22. PMID: 17586727.
31. Fisher DT, Appenheimer MM, Evans SS. The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment. *Semin Immunol.* 2014 Feb;26(1):38-47. doi: 10.1016/j.smim.2014.01.008. Epub 2014 Mar 3. PMID: 24602448; PMCID: PMC3970580.
32. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol.* 2011 Aug 5;11(9):607-15. doi: 10.1038/nri3041. PMID: 21818123.
33. Pedersen L, Idorn M, Olofsson GH, Lauenborg B, Nookaew I, Hansen RH, Johannesen HH, Becker JC, Pedersen KS, Dethlefsen C, Nielsen J, Gehl J, Pedersen BK, Thor Straten P, Hojman P. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution. *Cell Metab.* 2016 Mar 8;23(3):554-62. doi: 10.1016/j.cmet.2016.01.011. Epub 2016 Feb 16. PMID: 26895752.
34. Orange ST, Leslie J, Ross M, Mann DA, Wackerhage H. The exercise IL-6 enigma in cancer. *Trends Endocrinol Metab.* 2023 Nov;34(11):749-763. doi: 10.1016/j.tem.2023.08.001. Epub 2023 Aug 24. PMID: 37633799.
35. Dethlefsen C, Hansen LS, Lillelund C, Andersen C, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK, Hojman P. Exercise-Induced Catecholamines Activate the Hippo Tumor Suppressor Pathway to Reduce Risks of Breast Cancer Development. *Cancer Res.* 2017 Sep 15;77(18):4894-4904. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3125. PMID: 28887324.
36. Orange ST, Jordan AR, Odell A, Kavanagh O, Hicks KM, Eaglen T, Todryk S, Saxton JM. Acute aerobic exercise-conditioned serum reduces colon cancer cell proliferation in vitro through interleukin-6-induced regulation of DNA damage. *Int J Cancer.* 2022

- Jul 15;151(2):265-274. doi: 10.1002/ijc.33982. Epub 2022 Mar 5. PMID: 35213038; PMCID: PMC9314683.
37. Laoui D, Van Overmeire E, De Baetselier P, Van Ginderachter JA, Raes G. Functional Relationship between Tumor-Associated Macrophages and Macrophage Colony-Stimulating Factor as Contributors to Cancer Progression. *Front Immunol.* 2014 Oct 7;5:489. doi: 10.3389/fimmu.2014.00489. PMID: 25339957; PMCID: PMC4188035.
 38. Yi L, Gai Y, Chen Z, Tian K, Liu P, Liang H, Xu X, Peng Q, Luo X. Macrophage colony-stimulating factor and its role in the tumor microenvironment: novel therapeutic avenues and mechanistic insights. *Front Oncol.* 2024 Apr 4;14:1358750. doi: 10.3389/fonc.2024.1358750. PMID: 38646440; PMCID: PMC11027505.
 39. Pourteymour S, Eckardt K, Holen T, Langleite T, Lee S, Jensen J, Birkeland KI, Drevon CA, Hjorth M. Global mRNA sequencing of human skeletal muscle: Search for novel exercise-regulated myokines. *Mol Metab.* 2017 Jan 29;6(4):352-365. doi: 10.1016/j.molmet.2017.01.007. PMID: 28377874; PMCID: PMC5369209.
 40. Thomas Goj, Miriam Hoene, Louise Fritsche, Patrick Schneeweiss, Jürgen Machann, Agnese Petrera, Stefanie M Hauck, Andreas Fritsche, Andreas L Birkenfeld, Andreas Peter, Martin Heni, Andreas M Niess, Anja Moller, Cora Weigert, The Acute Cytokine Response to 30-Minute Exercise Bouts Before and After 8-Week Endurance Training in Individuals With Obesity, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 108, Issue 4, 1 April 2023, Pages 865-875
 41. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, Febbraio M, Saltin B. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J Muscle Res Cell Motil.* 2003;24(2-3):113-9. doi: 10.1023/a:1026070911202. PMID: 14609022
 - Cantarero-Villanueva I, Postigo-Martin P, Granger CL, Waterland J, Galiano-Castillo N, Denehy L. The minimal clinically important difference in the treadmill six-minute walk test in active women with breast cancer during and after oncological treatments. *Disabil Rehabil.* 2023 Mar;45(5):871-878. doi: 10.1080/09638288.2022.2043461. Epub 2022 Mar 30. PMID: 35352996.
 42. Autenshlyus A, Davletova K, Varaksin N, Marinkin I, Lyakhovich V. Cytokines in various molecular subtypes of breast cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2021 Jan-Dec;35:20587384211034089. doi: 10.1177/20587384211034089. PMID: 34399595; PMCID: PMC8375341.
 43. Lu, Z., Wang, Z., Zhang, X.-A., & Ning, K. (2024). Myokines May Be the Answer to the Beneficial Immunomodulation of Tailored Exercise—A Narrative Review. *Biomolecules*, 14(10), 1205. <https://doi.org/10.3390/biom14101205>

44. Díaz-Balboa, E., González-Salvado, V., Rodríguez-Romero, B. *et al.* Thirty-second sit-to-stand test as an alternative for estimating peak oxygen uptake and 6-min walking distance in women with breast cancer: a cross-sectional study. *Support Care Cancer* 30, 8251–8260 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00520-022-07268-z>

PIELIKUMI

Ētikas komitejas atļaujas lēmums.

Veidlapa Nr. E-9(3)

APSTIPRINĀTA

ar Rīgas Stradiņa universitātes rektora

2018. gada 26. septembra rīkojumu Nr. 5-1/238/2018

Rīgas Stradiņa universitātes
Pētījumu ētikas komitejas
LĒMUMS
Rīgā

03.06.2024

2-PĒK-4/426/2024

	Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1.	Profesors Jānis Vētra	Dr.habil. med.	Morfoloģijas katedra, profesors
2.	Profesore Ingrīda Čēma	Dr.habil. med.	Mutes, sejas un žokļu un mutes medicīnas katedra, profesore
3.	Asoc. Prof. Anita Vētra	Dr.med.	Rehabilitācijas katedra, asociētā profesore
4.	Docente Anna Junga	Dr.med.	Morfoloģijas laboratorijas vadītāja
5.	Docente Agnese Zariņa	Dr.med.	Bioloģijas un mikrobioloģijas katedra
6.	Docente Lidiya Juļa	Ph.D.	Juridiskās fakultātes vadošā pētniece
7.	Marina Siņkovska		Datu drošības un pārvaldības nodaļas datu aizsardzības speciālists

**Pieteikuma
iesniedzējs/i:**

Aija Klaviņa, Ilze Barone, Kristiāna
Kovtuna, Deina Vilīte, Mārtiņš Čampa

**Pētījuma / pētnieciskā
darba
nosaukums:**

Fiziskās aktivitātes, kā sekundārā krūts vēža
prevencijas līdzeklis: molekulāro mehānismu
longitudināls pētījums.

**Pētījumu ētikas
komitejas sēdes
datums:**

30.05.2024.

**Pētījuma
protokols:**

Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus, t.sk., protokolu, ir redzams, ka pētījuma Cancerbeat-2 mērķi - padziļināti izpētīt molekulāros mehānismus, kas nosaka fizisko aktivitāšu ietekmi uz veselības riska faktoriem, kas saistīti ar krūts vēža recidīvu 12-18 mēnešos pēc ārstēšanas, ir paredzēts sasniegt, iesaistot pacientes, bez kāda apdraudējuma veselībai, drošībai un dzīvībai, pētījumā (Fiziskās slodzes tests; 6 minūšu iešanas tests; aptauja - Eiropas Vēža izpētes un ārstēšanas organizācijas "Dzīves kvalitātes anketu" (EORTC QLQ-C30); 30 sek sēdus -piecēties (sit to stand) tests; ikdienas fiziskās aktivitātes novērtējums, izmantojot standartizētas pašvērtējuma aptaujas - Minesotas anketu (MLTPAQ - Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire); imūno biomarkieru noteikšana; proteomikas analīze), veicot iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī publicējot iegūtos rezultātus. Personu (pacientu) informēta brīvprātīga piekrišana piedalīties, iegūto personu datu apstrāde un aizsardzība, to pielietošana, glabāšana, anonimitāte un konfidencialitāte ir nodrošināta.

Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

Komitejas

Piekrist pētījuma īstenošanai.

lēmums:

Komitejas priekšsēdētājs Jānis Vētra
Dr.habil. med., profesors.

Tituls:

ŠIS DOKUMENTS IR ELEKTRONISKI PARAKSTĪTS AR DROŠU
ELEKTRONISKO PARAKSTU UN SATUR LAIKA ZĪMOGU

A.Semjonova

Tālrunis: 67061547

PĒTĪJUMA DALĪBNIKĀ INFORMĒTĀ PIEKRIŠANA
par dalību Rīgas Stradiņa universitātes veiktajā pētījumā “Inovācijas, metodikas un
rekomendācijas sporta nozares attīstībai un pārvaldībai Latvijā”

INFORMĀCIJA PAR PĒTĪJUMU

Pētījuma īstenotājs un personas datu pārzinis:

Rīgas Stradiņa universitāte (RSU)

Dzirčiema iela 16, Rīga, LV-1007

Personas datu apstrādes tiesiskais pamats: Vispārīgās datu aizsardzības regulas 6.panta 1.punkta a) apakšpunkts, 9.panta 2.punkta a) apakšpunkts.

Ar sīkāku informāciju par savām datu subjekta tiesībām var iepazīties RSU Privātuma politikā <https://www.rsu.lv/privatuma-politika>

Cienījamais Pētījuma dalībniek!

Uzaicinām Jūs piedalīties pētījumā “Fiziskās aktivitātes, kā sekundārā krūts vēža prevencijas līdzeklis: molekulāro mehānismu longitudināls pētījums (Cancerbeat-2) (Nr.RSU/LSPA-ZG-2024/1-0001) (turpmāk – Pētījums). Pētījuma zinātniskā vadītāja ir vadošā viespētniece Aija Kļaviņa.

Vēlamies Jūs iepazīstināt ar Pētījuma mērķi, norisi un saturu. Pirms šī dokumenta parakstīšanas rūpīgi izlasiet visu informāciju! Pirms dokumenta parakstīšanas Jums ir tiesības uzdot jautājumus par pētījumu un saņemt uz tiem atbildes.

Pētījuma mērķis

Cancerbeat-2 pētījuma mērķis ir padziļināti izpētīt molekulāros mehānismus, kas nosaka fizisko aktivitāšu ietekmi uz veselības riska faktoriem, kas saistīti ar krūts vēža recidīvu 12-18 mēnešos pēc ārstēšanas.

Pētījuma apraksts, ilgums un norise

Pētījuma datu ieguve noritēs no 2024.gada augusta. līdz 2026.gada augustam RSU un LSPA Sporta veselības izpētes laboratorijā. Jums būs nepieciešams ierasties uz vienu kompleksu novērtēšanas reizi, kuras laikā Jums veiks fiziskās slodzes testu un slīdceļa, 6 minūšu iešanas testu un 30 sek piecerties- apsēsties testu. Pirms un pēc fiziskās slodzes testa Jums tiks paņemts asins paraugs. Novērtēšanas noslēgumā aizpildīsiet anketu par fizisko aktivitāšu ikdienas paradumiem (Minesotas brīvā laika fizisko aktivitāšu anketa) un elektroniski aizpildīsiet Eiropas Vēža izpētes un ārstēšanas organizācijas “Dzīves kvalitātes anketu” (EORTC QLQ-C30). Jūs saņemsiet Fitbit sporta aproci, kuru Jums būs jānēsā sekojošās 7 dienas. Kompleksās novērtēšanas laiks apmēram 1.5 – 2 stundas. Jums būs nepieciešams savs sporta apģērbs un apavi, dvieļītis. Nodrošināsim ģērbtuves un dušu. Pēc nedēļas Jūs aproci atgriezīsiet pētniekiem un aizpildīsiet Starptautisko aptauju par fizisko aktivitāti (IPAQ), kas iekļauj jautājumus par ikdienas fiziskām aktivitātēm iepriekšējās 7 dienās. Aptaujas aizpildīšanai nepieciešams ap 10-15 minūtes.

Konfidencialitāte un personas datu aizsardzība

Pētījumā tiks ievērota dalībnieku datu aizsardzība un konfidencialitāte atbilstoši Eiropas Parlamenta un Padomes Regulai (ES) 2016/679 (2016. gada 27. aprīlis) par fizisku personu aizsardzību attiecībā uz personas datu apstrādi un šādu datu brīvu apriti un ar ko atceļ Direktīvu

95/46/EK (Vispārīgā datu aizsardzības regula) un citiem spēkā esošajiem normatīvajiem aktiem. Iegūstamie personas dati paredzēti tikai pētījuma mērķa sasniegšanai.

Pētījumā iegūto datu uzglabāšanā tiks ievērota pilnīga konfidencialitāte, tie būs pieejami tikai pētnieku grupai, kas saistīta ar pētījumu. Dalībniekam, piekrītot piedalīties pētījumā, tiks piešķirts identifikācijas kods, ar kuru viņa dati tiks uzglabāti ar paroli aizsargātos datora failos RSU serverī, kamēr tiks apstrādāta informācija bez publiskas piekļuves. Kodētie paraugi tiks īpaši apstrādāti, lai tos varētu analizēt un ilgstoši uzglabāt drošā vietā ar ierobežotu pieejamību. Pētījumā tiks apstrādāti sekojoši personas dati - vārds un uzvārds, vecums, dzimums, dzīvesvieta. Pētījumā iegūtie rezultāti tiks prezentēti tikai apkopotā anonīmā veidā konferencēs un zinātniskās publikācijās. Pētījuma laikā iegūta informācija netiks izpausta ne Jūsu ģimenes locekļiem, ne apdrošināšanas firmai, ne darba devējam vai kādai citai trešajai personai bez Jūsu piekrišanas. Jūsu personas dati netiks nodoti ārpus ES/EEZ.

Papildus tam Jums ir tiesības pieprasīt piekļuvi saviem datiem, pieprasīt Jūsu personas datu labošanu vai dzēšanu, tiesības "tikt aizmirstam", tiesības ierobežot datu apstrādi un tiesības iebilst. Informējam, ka pētījuma laikā nepastāv automatizēta lēmuma pieņemšana, tostarp profilēšana.

Pētījumā iegūtie dati, tiks uzglabāti pētniecības vajadzībām, apkopotā veidā RSU datu repozitorijā Dataverse vismaz 5 gadus pēc pētījuma beigām. Kad dati kļūs neaktuāli, tie tiks iznīcināti. Tiks iznīcinātas arī parakstītās Informētās piekrišanas veidlapas.

Ja Jums ir kādi jautājumi par Jūsu personas datu apstrādi, tad lūgums vērsties pie RSU datu

aizsardzības speciālista (Marina Sinkovska, e-pasts: marina.sinkovska@rsu.lv).

Jums ir tiesības iesniegt sūdzību uzraudzības iestādē, ja uzskatāt, ka tiek veikta nekorekta personas datu apstrāde: Datu valsts inspekcija, Elijas iela 17, Rīga, LV-1050, pasts@dvi.gov.lv, +371 67223131

Ieguvumi, iespējami riski un neērtības (diskomforts)

Pētījums neparedz tiešu materiālo atlīdzību, taču Jūsu dalība pētījumā palīdzēs iegūt datus, lai varētu izpētīt molekulāros mehānismus, kas nosaka fizisko aktivitāšu ietekmi uz veselības riska faktoriem, kas saistīti ar atkārtota krūts vēža riskiem 12-18 mēnešos pēc ārstēšanas. Papildus būs iespēja saņemt atgriezenisko saiti par esošo fiziskās veselības stāvokli un aerobajām darbībām un ieteikumus fizisko aktivitāšu veikšanai ikdienā.

Fiziskās slodzes tests ir saistīts ar fizisku darba spēju novērtēšanu, kas var radīt fizisku piepūli. Aerobo darbaspēju testa laikā tiks sasniegta maksimāla slodze. Augstas intensitātes slodzes laikā atsevišķos gadījumos var būt galvas reibonis, slikta pašsajūta, elpas trūkums. Pirms testa veikšanas un testa laikā pētījuma dalībniecēm tiks sniegtas instrukcijas ziņot par diskomfortu, izmantojot modificēto Borga skalu. Asins paraugu ņemšanas rezultātā, var parādīties zilums/hematoma, kas izraisa diskomforta sajūtu.

Brīvprātīga piedalīšanās

Piedalīšanās šajā pētījumā ir brīvprātīga. Jums ir tiesības atteikties no dalības Pētījumā jebkurā laikā. Jūsu atteikšanās no dalības Pētījumā neradīs negatīvas sekas vai nevēlamu ietekmi uz Jums sniegtās veselības aprūpes kvalitāti. Atteikuma gadījumā visi Jūsu personas dati nekavējoties tiks dzēsti, bet iegūtie pētījuma rezultāti anonimizēti.

Mēs informēsim Jūs par visiem būtiskajiem jautājumiem par šo pētījumu, kas var ietekmēt Jūsu vēlmi turpināt dalību šajā pētījumā, ja tam piekritīsiet.

Jautājumi vai bažas. Ja Jums ir jebkādi jautājumi par šo Pētījumu vai vēlaties pārtraukt savu dalību Pētījumā, lūdzu, sazinieties ar pētījuma zinātnisko vadītāju Aiju Kļaviņu (t. 29203488).