



rk-3941

Arta Bārzdīņa

**BIOMARĶIERU IZVĒRTĒJUMS
GALVAS TRAUMAS DIAGNOSTIKĀ
UN PROGNOZĒŠANĀ**

Promocijas darba kopsavilkums
Specialitāte – morfoloģija

Rīga, 2013

PRK-8941

17317 512



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Arta Bārzdiņa

**Biomarķieru izvērtējums
galvas traumas diagnostikā
un prognozēšanā**

Promocijas darba
kopsavilkums

Specialitāte – morfológija

0221007635

Rīga, 2013

Promocijas darbs izstrādāts: Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā, Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas Intensīvās terapijas un Neuroķirurģijas nodaļā un RSU Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedrā.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med., profesore **Māra Pilmane**, AAI, RSU

Dr. habil. med., profesors **Aigars Pētersons**
Bērnu ķirurģijas katedra, RSU

Oficiālie recenzenti:

Dr. med., asociētā profesore **Ilze Štrumfa**, RSU

Dr. med. vet., asociētā profesore **Ilze Matīse-Van Houtana**,
VMF, LLU

MD, PhD, DEAA EDIC **Māris Dubņiks**,
Lundas universitāte, Zviedrija

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2013. gada 4. septembrī plkst. 15.00 Rīgas Stradiņa universitātes Teorētiskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:
www.rsu.lv



Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta "Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē" atbalstu.

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. habil. med., profesore **Līga Aberberga-Augškalne**

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Līga Aberberga-Augškalne".

SATURS

Darbā lietotie saīsinājumi	4
Pētījuma aktualitāte	6
Darba hipotēze	8
Darba mērķis un uzdevumi.....	8
Darba novitāte	9
Materiāls un metodes	10
Rezultāti	14
1. Morfoloģiskā pētījuma rezultāti - smadzeņu šūnu citoskeleta, citokīnu un apoptozes atradne	14
1.1. Kontroles grupas pacientu smadzeņu audu pārmaiņas	15
1.2. Pēc fatālām galvas traumām notikuma vietā mirušu bērnu smadzeņu audu pārmaiņas	15
1.3. Pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušu bērnu smadzeņu audu pārmaiņas	16
1.4. Pēc fatālām galvas traumām notikuma vietā mirušu pieaugušo smadzeņu audu pārmaiņas	18
1.5. Pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušu pieaugušo smadzeņu audu pārmaiņas	18
2. Klīniskā pētījuma rezultāti	19
2.1 Kontroles grupas pacientu dati	19
2.2. Dati par dažādas smaguma pakāpes galvas traumu guvušu bērnu grupu vecumā no viena mēneša līdz diviem gadiem	20
2.3. Dati par dažādas smaguma pakāpes galvas traumu guvušu bērnu grupu vecumā no diviem līdz septiņiem gadiem	21
Statistiskā datu analīze	23
Diskusija	30
Secinājumi	42
Publikācijas un prezentācijas par pētījuma tēmu	44

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Abreviatūra	Nosaukums angļu valodā	Skaidrojums latviešu valodā
BBB	<i>Blood brain barrier</i>	Hematoencefālā barjera
BKUS	<i>University Children's hospital</i>	Bērnu klīniskā universitātes slimnīca
CNS	<i>Central nervous system</i>	Centrālā nervu sistēma
CSF	<i>Cerebrospinal fluid</i>	Cerebrospinālais šķidrums
CSN	<i>Road accident</i>	Ceļu satiksmes negadījums
CT	<i>Computer tomography</i>	Datortomogrāfija
DAI	<i>Diffuse axonal injury</i>	Difūzi aksonāls bojājums
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>	Epidermālais augšanas faktors
GFAP	<i>Glial fibrillary acidic protein</i>	Glijas fibrilārais skābais proteīns
GCS	<i>Glasgow Coma Scale</i>	Glāzgovas komas skala
GOS	<i>Glasgow Outcome Scale</i>	Glāzgovas iznākuma skala
HT	<i>Head trauma</i>	Galvas trauma
<i>i/c</i>	<i>Intra cranial</i>	Intrakraniāli
ICP	<i>Intra cranial pressure</i>	Intrakraniālais spiediens
ICU	<i>Intensive Care Unit</i>	Intensīvās terapijas nodaļa
IF	<i>Intermediate filaments</i>	Starpdiedziņi
IL- α	<i>Interleukin-1 alfa</i>	Interleikīns-1 alfa
IL- β	<i>Interleukin-1 beta</i>	Interleikīns-1 beta
IL-1RA	<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i>	Interleikīna-1 receptoru antagonists
IL-4	<i>Interleukin-4</i>	Interleikīns-4
IL-6	<i>Interleukin-6</i>	Interleikīns-6
IL-8	<i>Interleukin-8</i>	Interleikīns-8
IL-10	<i>Interleukin-10</i>	Interleikīns-10
IL-12	<i>Interleukin-12</i>	Interleikīns-12
IL-17	<i>Interleukin-17</i>	Interleikīns-17
INF- α	<i>Interferon-alfa</i>	alfa Interferons
INF- γ	<i>Interferon-gamma</i>	gamma Interferons

<i>IQR</i>	<i>Interquartile range</i>	Starpkvartīru izkliede
<i>K</i>	<i>Control patient</i>	Kontroles pacients
<i>M</i>	<i>Girl</i>	Meitene
<i>MCC</i>	<i>Median cell count</i>	Vidējais šūnu skaits
<i>MCP-1</i>	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>	Monocītu hemotakses proteīns-1
<i>mL</i>	<i>Milliliters</i>	Millilitri
μm	<i>Micrometers</i>	Mikrometri
<i>MMPs</i>	<i>Matrix Metalloproteinases</i>	Matrices metaloproteināzes
<i>mRNA</i>	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>	Ziņotāja ribonukleīnskābe
<i>MSC</i>	<i>Mesenchymal stem cell</i>	Mezenhimālās cilmes šūna
<i>NF</i>	<i>Neurofilaments</i>	Neurofilamenti
<i>nm</i>	<i>Nanometers</i>	Nanometri
<i>NSE</i>	<i>Neuron-specific enolase</i>	Neuronspecifiskā enolāze
<i>P</i>	<i>Patient</i>	Pacients
<i>pNF-H</i>	<i>Phosphorylated neurofilament-H</i>	Fosforilētais neurofilaments-H
<i>RNA</i>	<i>Ribonucleic Acid</i>	Ribonukleīnskābe
<i>RSU</i>	<i>Riga Stradins University</i>	Rīgas Stradiņa universitāte
<i>S</i>	<i>Woman</i>	Sieviete
<i>S-AMPA</i>	<i>Selective-amino glutamate agonist</i>	Selektīvais amino glutamāta agonists
<i>S100B</i>	<i>S100 calcium binding protein B</i>	S100 kalciju saistošais proteīns B
<i>T</i>	<i>T cells</i>	T šūnas (T limfocīti)
<i>Th</i>	<i>T helpers</i>	T palīgšūna
<i>Th0; Th1; Th2</i>	<i>Different types of T helpers</i>	Tpalīgšūnu dažādas diferenciācijas
<i>TNF-α</i>	<i>Tumor Necrotic Factor alfa</i>	Tumora nekrozes faktors alfa
<i>UCH-L1</i>	<i>Ubiquitin C-Terminal Hydrolase-L1</i>	Ubikvitīna C-termināla hidrolāze-L1
<i>V</i>	<i>Man</i>	Vīrietis
<i>Z</i>	<i>Boy</i>	Zēns

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Galvas traumas bērnu populācijā ir viens no biežākajiem nāves un paliekošas invaliditātes cēloņiem visā pasaulē traumu aspektā. Tās rada nopietnas sociāli ekonomiskas problēmas (Ghajar, 2000). Gan Eiropā, gan ASV galvas traumu biežums visās bērnu vecuma grupās katru gadu variē no 100 līdz 1115 uz 100 000 bērnu, bet vecuma grupā līdz 2 gadiem šī attiecība vidēji ir no 1150 līdz 1400 uz 100 000 bērnu (Falk et al., 2008). Pēdējos gados ir pieaudzis to pētījumu skaits, kuros tiek uzsvērtas būtiskas anatomiskās atšķirības starp nobriedušām pieauguša cilvēka smadzenēm un attīstības procesā esošām bērna smadzenēm. Tas izskaidro, kāpēc pēc līdzvērtīga smaguma galvas traumas zīdaiņu un pirmskolas vecuma bērnu grupā salīdzinājumā ar vecākiem bērniem un pieaugušajiem ir augstāki mirstības rādītāji (Giza et al., 2007). Galvas traumas smaguma pakāpes noteikšanai izmanto Glāzgovas komas skalu (GCS), bet zīdaiņiem un maziem bērniem – pielāgotu GCS modifikāciju (Simpson, 1982; Raimondi, 1984). Radioloģiskās izmeklēšanas metodes nodrošina tikai ierobežotu ieskatu galvas traumas smaguma raksturošanā un iznākuma prognozēšanā. Datortomogrāfijas metode nesniedz precīzu informāciju par difūzi aksonāliem smadzeņu bojājumiem, kuri bērnu vecumā ir visbiežāk sastopami, turpretī magnētiskās rezonanses izmeklējuma pieejamība ir ierobežota situācijās, kad pacienta stāvoklis ir nestabils. Viegļās un vidēji smagās galvas traumas veido aptuveni 90% no visām galvas traumām, un šo traumu guvušo pacientu grupai svarīga precīza akūtas diagnozes uzstādīšana un gala rezultāta prognozes noteikšana. Pēdējo gadu pētījumos uzsvērts, ka visneprognozējamākās, līdz ar to visbīstamākās, ir vieglās galvas traumas, kuras sākumā novērtētas ar GCS 13–15 ballēm, attālākā periodā pēc traumas notikuma pacientiem var izraisīt intrakraniālas asiņošanas, difūzi aksonālu bojājumu. Nākotnē tas var radīt invaliditāti, kognitīvo un psihosociālo funkciju traucējumus (Millis et al., 2001).

Līdz ar to īpaša loma tiek pievērsta biomarķieriem kā galvas traumas prognozes indikatoriem. Pēdējo gadu pētījumos ir identificēti vairāki potenciāli noderīgi biomarķieri, kas raksturīgi tikai smadzeņu audu bojājumam, iekaisuma marķieri un/vai citu bioķīmisku un fizioloģisku procesu, piemēram, reģenerācijas un apoptozes marķieri. Būtisks sekundārā smadzeņu bojājuma process ir citoskeleta bojājums, kura viens no vadošajiem biomarķieriem ir glijas fibrilārais skābais proteīns (*GFAP*). Mazāk informācijas literatūrā ir par neurofilamentiem (*NF*), kuri bagātīgi atrodas neironu ķermeņos. Neironu bojāejas gadījumā *NF* klātbūtne gan cerebrospinālajā šķidrumā (*CFS*), gan serumā varētu būt lielā koncentrācijā (*Shaw et al., 2005*). Literatūrā joprojām nav skaidru datu par šo biomarķieru ekspresiju smadzeņu audos traumas un pretsitiena vietās dažādos laika periodos pēc traumas notikuma. Īpaša nozīme biomarķieru noteikšanai traumas un pretsitiena vietām ir aspektam, ka bērnu galvas traumu mehānika pārsvarā balstās uz lineāro paātrinājuma, palēninājuma un rotācijas spēku mijiedarbību, kuru rezultātā attīstās lokāls bojājums sitiena vietā un daudz plašāks difūzi aksonāls bojājums pretsitiena vietā. Tāpēc būtiski ir saprast audu atbildes reakcijas biomarķieru ekspresijas veidā abās bojājuma vietās – gan sitiena jeb traumas vietā un pretsitiena vietā (*Drew and Drew, 2004*). Vēl viens patofizioloģiskais process, kas veicina sekundāro smadzeņu bojājumu, ir iekaisums. Pētījumos īpaša uzmanība tiek pievērsta kompleksām imunoloģiski iekaisīgām smadzeņu audu atbildes reakcijām. Literatūrā ir skaidri aprakstīti vairāki desmiti iekaisuma mediatoru, kuri dažādās koncentrācijās ir atrodami pēc traumatiska smadzeņu bojājuma galvenokārt eksperimenta dzīvniekiem, bet nav konkrētu datu par šo biomarķieru ekspresiju cilvēka smadzeņu audos traumas un pretsitiena vietās dažādos laika periodos pēc traumas notikuma. Tāpēc mūsu pētījuma mērķis bija smadzeņu sekundārajam bojājumam raksturīgu biomarķieru ekspresijas izpēte smadzeņu audu materiālā un perifēro asiņu paraugos dažādos laika periodos pēc traumas.

DARBA HIPOTĒZE

1. Vienāda smaguma galvas traumas gadījumos biomarķieru (citokīnu, hemokīnu, citoskeleta marķieru) ekspresija smadzeņu audos ir izteiktāka bērniem agrīnā vecumā nekā ontogēnētiski vecākiem bērniem un pieaugušajiem.

2. Dažādu smadzeņu bojājumam specifisku biomarķieru (citokīnu, hemokīnu) ekspresija asins serumā ir atkarīga no laika perioda pēc traumas.

DARBA MĒRĶIS

Smadzeņu sekundārajam bojājumam raksturīgu biomarķieru ekspresijas izpēte smadzeņu audu materiālā un perifēro asiņu paraugos dažādos laika periodos pēc traumas.

DARBA UZDEVUMI

1. Izpētīt *GFAP* un *NF* ekspresiju smadzeņu audos traumas un pretsitiena vietās gan bērniem, gan pieaugušajiem, kuri miruši notikuma vietā, un tiem, kuri miruši attālinātā periodā no traumas notikuma brīža.

2. Izpētīt *IL-6* ekspresiju smadzeņu garozā un baltajā vielā un *IL-10* ekspresiju smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietās gan bērniem, gan pieaugušajiem, kuri miruši notikuma vietā, un tiem, kuri miruši attālinātā periodā no traumas notikuma brīža.

3. Noteikt apoptotisko šūnu daudzumu un sadalījumu pacientiem pēc fatālām galvas traumām smadzeņu audos traumas un pretsitiena vietās.

4. Noteikt iegūto morfoloģisko datu iespējamo savstarpējo korelāciju.

5. Noteikt iekaisuma biomarkieru *IL-1 β* , *IL-4*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-12*, *IL-17*, *MCP-1*, *EGF* un *INF- α* koncentrāciju asins serumā bērniem vecumā līdz septiņiem gadiem četrās definētās laika vienībās (24; 48; 72 un 96 stundas pēc traumas) smagu, vidēji smagu un vieglu galvas traumu gadījumā, un šos biomarkierus noteikt asins serumā kontroles grupas pacientiem – bērniem vecumā līdz septiņiem gadiem.

6. Statistiski analizēt iegūtos datus, nosakot perifēro asiņu biomarkieru datu iespējamo korelāciju.

DARBA NOVITĀTE

Galvas traumas gadījumos noteiktas biomarkieru atšķirības pieaugušajiem un bērniem traumētos smadzeņu audos un bērniem – perifērajās asinīs.

MATERIĀLS UN METODES

Morfoloģiskajam pētījumam tika izmantots Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta arhīvā esošais smadzeņu audu materiāls no pacientiem, kuri guvuši fatālas galvas traumas un no kontroles pacientiem. Pirms nonākšanas minētajā arhīvā smadzeņu audu materiāls atradās Valsts tiesu medicīnas ekspertīzes centrā, kur smadzeņu materiāls ticis paņemts 12–24 stundu laikā pēc pacienta nāves no traumas un pretsitiena vietām, pārsvarā, no pieres un pakauša smadzeņu rajoniem un no labo un kreiso deniņu rajoniem. Ja traumas vieta bija paura rajons, tad pretsitiena vietas bija deniņu daivu apakšējie rajoni. No traumas vietas tika ņemti mehāniski bojātajiem audiem blakus esošie smadzeņu audi, kuri atbilst *penumbras* zonai. Materiāls tika apstrādāts Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta morfoloģijas laboratorijā, kur tika veiktas rutīnās histoloģijas un imūnhistoķīmijas metodes. RSU Ētikas komitejas atļauja Nr. E-9(2) – 17.12.2009.

Kopējais morfoloģiskā materiāla vienību skaits bija 28, kas tika sadalīts četrās apakšgrupās un kontroles grupa: 1. grupa – septiņi notikuma vietā mirušie bērni līdz 18 gadu vecumam; 2. grupa – pieci attālinātā laikā pēc traumas mirušie bērni līdz 18 gadu vecumam; 3. grupa – 13 notikuma vietā mirušie pieaugušie; 4. grupa – trīs attālinātā periodā pēc traumas mirušie pieaugušie; 5. grupa – kontroles grupa, pieci pieaugušie.

No smadzeņu audu materiāla tika sagatavoti 5 μ m biezi griezumī, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu un sagatavoja, lai ar biotīna – streptavidīna imūnhistoķīmijas metodi noteiktu glijas fibrillāro skābo proteīnu (*GFAP*), neirofilamentus (*NF*), interleikīnu-6 (*IL-6*) un interleikīnu-10 (*IL-10*). Izmantotās antivielas aprakstītas 1. tabulā.

Dati par imūnhistoķīmijā lietotajām antivielām

N.p.k	Faktors	Kods	No kā iegūts	Darba atšķaidījums	Ražotājs
1.	<i>GFAP</i>	M 0761	Peles	1:100	<i>DakoCytomation, Dānija</i>
2.	<i>NF</i>	M 0762	Peles	1:100	<i>DakoCytomation, Dānija</i>
3.	<i>IL-6</i>	sc-73319	Peles	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, ASV</i>
4.	<i>IL-10</i>	ab-34843	Truša	1:400	<i>Abcam, Lielbritānija</i>

IL-6 – interleikīns-6; *IL-10* – interleikīns-10, *GFAP* – glijas fibrilārais skābais proteīns; *NF* – neurofilamenti

Apoptozes noteikšanai ar *TUNEL* metodi tika izmantots apoptozes komplekts: *In Situ Cell Deth Detection, POD* kataloga numurs 1684817 *Roche Diagnostiks DNase I*.

Preparāti tika izskatīti, izmantojot gaismas mikroskopijas tehniku – *Leica* mikroskopu un analizēti ar *Image Pro Plus 60* datorprogrammu. Histoloģiskā aina tika fiksēta ar *Leica Microsystem AG* (Vācija) digitālo kameru.

Imūnhistoķīmiski noteikto *GFAP* un *NF* pozitīvo struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai tika lietota puskvantitatīvā skaitīšanas metode. Struktūru daudzums tika analizēts nejauši izvēlētos viena griezuma trijos redzes laukos. Puskvantitatīvajai metodei tika izmantoti 2. tabulā redzamie apzīmējumi.

IL-6 un *IL-10* pozitīvās šūnas tika skaitītas viena griezuma trijos nejauši izvēlētos redzeslaukos, un aprēķināts vidējais šūnu skaits.

TUNEL metodes datu apstrādei tika izmantots apoptotiskais indekss, kur viena griezuma trijos nejauši izvēlētos redzeslaukos tika saskaitītas apoptotiskās šūnas no 100 šūnām, noteikts vidējais šūnu skaits un iegūtais rezultāts dalīts ar 100.

Puskvantitatīvās metodes apzīmējumi

Lietotie apzīmējumi	Paskaidrojumi
-	Redzeslaukā netika redzēta neviena pozitīva struktūra
0/+	Redzeslaukā retas pozitīvas struktūras
+	Redzeslaukā maz pozitīvu struktūru
+/+	Redzeslaukā no maza līdz vidēji lielumam pozitīvu struktūru daudzumam
+/+++	Redzeslaukā no vidēja daudzuma līdz lielumam pozitīvu struktūru daudzumam
+++	Redzeslaukā daudz pozitīvu struktūru
+++ /++++	Redzeslaukā no liela daudzuma līdz ļoti lielumam pozitīvu struktūru daudzumam
++++	Redzeslaukā ļoti liels daudzums pozitīvu struktūru

Klīniskajam pētījumam venozo asiņu paraugi tika vākti laika posmā no 2010. gada līdz 2012. gadam Valsts bērnu klīniskās universitātes slimnīcas Intensīvās terapijas nodaļā un Neuroloģijas un neiroķirurģijas klīnikā. Savāktais materiāls tika apstrādāts Rīgas Stradiņa Universitātes Biokīmijas laboratorijā. BKUS ētikas komitejas atļauja no 30.08.2010.

Klīniskajā pētījumā tika izmantots venozo asiņu materiāls no Valsts bērnu Klīniskās universitātes slimnīcas Intensīvās terapijas nodaļas un Neuroloģijas un neiroķirurģijas klīnikā ievietotajiem 18 pacientiem ar smagām, vidēji smagām un vieglām galvas traumām vecumā no viena mēneša līdz 7 gadiem. Traumu smaguma pakāpe tika noteikta bērnam iestājoties slimnīcā atbilstoši GCS ballu sistēmai (viegla HT – no 13 līdz 15 ballēm, vidēji smaga – no 9 līdz 12 ballēm un smaga – no 3 līdz 8 ballēm; sīkāka informācija par GCS pielikumā) un datortomogrāfijas (CT) atradni. Pētījumā netika iekļauti pacienti ar politraumu un/vai citas orgānu sistēmas akūtu vai hronisku saslimšanu. Visi

pacienti tika iedalīti šādās grupās: 1. grupa – astoņi bērni vecumā no viena mēneša līdz diviem gadiem ar dažāda smaguma pakāpju galvas traumām (pamatojums - līdz divu gadu vecumam vēl norit aktīvs neiroblastu mitozes process); 2. grupa – desmit bērni vecumā no divu gadu līdz septiņu gadu vecumam ar dažāda smaguma pakāpju galvas traumām (pamatojums – no divu līdz septiņu gadu vecumam bērna smadzeņu tilpums pieaug uz glijas rēķina, sasniedzot pieauguša cilvēka smadzeņu apjomu septiņu astoņu gadu vecumā); 3. grupa – kontroles grupa, 16 bērni.

Venozās asinis no pacientiem tika paņemtas no rīta tukšā dūšā 2 vakutaineros bez antikoagulanta.. Centrifugēšanas rezultātā iegūto venozo asiņu serumu uzglabāja saldētavā -70° C. Seruma paraugi tika nogādāti RSU Biokīmijas katedras laboratorijā. Citokīnu koncentrācija serumā tika analizēta ar *Luminex xMAP* sistēmu, izmantojot *Milliplex kit*

Atkarībā no datu struktūras tika izmantotas medicīnas pētījumos vispārpieņemtās statistiskās analīzes metodes. Datu izvērtēšanai darbā tika izmantotas neparametriskās statistikas metodes. Pētījuma grupu salīdzināšanai tika lietoti centrālās tendences rādītāji ar vidējām vērtībām un standarta novirzi un izkliedes rādītāji. Lai izvērtētu divu mainīgo savstarpējās atbilstības ciešumu, tika izmantotas *Spearman* vai *Pearson* korelācijas un lineārās regresijas analīzes metodes. Divu neatkarīgu grupu salīdzināšanai tika lietots *Mann – Whitney U* tests un *Wilcoxon Signed Ranks* tests. Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p < 0,05$. Korelācijas koeficientu r kā sakarības ciešuma kvantitatīvo rādītāju starp diviem vai vairākiem mainīgajiem lielumiem aprēķināja pēc rangu skalas lielumiem – *Spearman* korelācijas koeficienta. Ja korelācijas koeficients r ir lielāks par 0,7, tad divu vai vairāku lielumu korelācija ir cieša. Ja r ir lielāks par 0,5, tad korelācija starp pētāmajiem lielumiem ir vidēji cieša, bet, ja r ir mazāks par 0,3, tad korelācija starp pētāmajiem lielumiem ir vāja. Statistiskā analīze veikta ar *SPSS (Statistical package for social sciences for Windows 18.0, ASV)*

REZULTĀTI

1. Morfoloģiskā pētījuma rezultāti - smadzeņu šūnu citoskeleta, citokīnu un apoptozes atradne

Kontroles grupas pacientu smadzeņu pelēkajā vielā pārliecinoši bija redzami seši smadzeņu garozas slāņi ar pilnasinīgiem kapilāriem un atsevišķi makrofāgi. Kontroles grupas pacientu baltajā vielā varēja redzēt praktiski neizmainītu histoloģisku ainu ar minimālu glijas šūnu tūsku, nervu šķiedras un atsevišķu kapilāru pilnasinību

Visiem pacientiem pēc fatālām galvas traumām varēja redzēt izmainītus smadzeņu audus. Gan traumas, gan pretsitiena vietās bija plašs *pia mater* bojājums ar *pia mater* fragmentācijām un plašām hematomām starp nebojāto *pia mater* un smadzeņu pelēkās vielas molekulāro slāni. Visiem pačientiem, kas bija miruši notikuma vietā, smadzeņu pelēkajā vielā traumas vietā visizteiktāk bija redzami trīs no sešiem smadzeņu pelēkās vielas slāņiem ar smadzeņu audu tūsku un perēkļveida nekrozi, smadzeņu baltajā vielā bija redzama glijas šūnu, pamatvielas tūska un pilnasinīgi kapilāri. Smadzeņu pelēkajā vielā pretsitiena vietā bija redzami seši smadzeņu garozas slāņi, no kuriem visskaidrāk bija redzami trīs ar izteiktu šūnu tūsku. Smadzeņu baltajā vielā bija redzama dažādu pakāpju glijas šūnu tūska, asinsvadu sienīņu tūska un pilnasinība.

Visiem pacientiem, kas mira attālinātā periodā pēc traumas, smadzeņu pelēkajā vielā traumas vietā bija redzami seši smadzeņu garozas slāņi ar smadzeņu audu tūsku un atsevišķiem destruktijas perēkļiem. Smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija redzamas nervu šķiedras un glijas šūnu tūska. Šiem pacientiem smadzeņu pelēkajā vielā pretsitiena vietā bija redzami visi seši smadzeņu garozas slāņi ar izteiktu pelēkās vielas neironālo struktūru tūsku un iespējamiem destruktijas perēkļiem. Smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā bija redzamas nervu šķiedras, dažādu pakāpju glijas šūnu tūska un glijas šūnu proliferācija.

1.1 Kontroles grupas pacientu smadzeņu audu pārmaiņas

Visiem pieciem kontroles grupas pacientiem smadzeņu baltajā vielā tika konstatēta glijas fibrilārā skābā proteīna (*GFAP*) atradne astrocītos un neironālās struktūrās un neurofilamentu (*NF*) ekspresija nervu šķiedrās un atsevišķu šūnu kodolos. Interleikīna *IL-6* pozitīvie piramidālie neironi netika konstatēti nevienam no pieciem kontroles grupas pacientiem, tikai atsevišķas *IL-6* vāji pozitīvas glijas šūnas, bet visiem pieciem pacientiem tika konstatētas *IL-10* (vidējais skaits $36,93 \pm 1,89$) un neliels skaits *IL-6* pozitīvu glijas šūnu ($16,67 \pm 2,87$) smadzeņu baltajā vielā. Visiem kontroles grupas pacientiem smadzeņu baltajā vielā tika konstatētas apoptotiskas glijas šūnas (vidējais skaits $58,13 \pm 2,00$ un apoptotiskais indekss $AI 0,61 \pm 0,05$).

1.2. Pēc fatālām galvas traumām notikuma vietā mirušu bērnu smadzeņu audu pārmaiņas

Smadzeņu baltajā vielā traumas vietā *GFAP* pozitīvas nervu šķiedras un faktora pozitīvas mikroglijas šūnas tika konstatētas tikai trijiem, bet *NF* pozitīvas neironālas struktūras tikai četriem no septiņiem notikuma vietā mirušajiem bērniem. Smadzeņu baltajā vielā pretsitienu vietā *GFAP* pozitīvas nervu šķiedras, imūnreaktīvi astrocīti un faktora pozitīvas mikroglijas šūnas un *NF* pozitīvas neironālas struktūras tika konstatētas visiem septiņiem notikuma vietā mirušajiem bērniem. *GFAP* un *NF* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija mazs (+), pretsitienu vietā *GFAP* imūnreaktīvo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija no vidēja daudzuma līdz lielumam (++/+++), *NF* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija liels (+++). Visiem septiņiem notikuma vietā mirušajiem bērniem tika konstatēti *IL-6* pozitīvi garozas piramidālie neironi, *IL-6* un *IL-10* pozitīvas glijas šūnas smadzeņu baltajā vielā, un to skaits traumas vietā bija mazāks nekā pretsitienu vietā (3.tabula). Apoptotiskās šūnas smadzeņu baltajā vielā tika konstatētas visiem septiņiem

bērniem gan traumas, gan pretsitiena vietās. Jāatzīmē, ka gadu vecajam bērnam tika konstatēts trīs reizes lielāks apoptotisko šūnu skaits traumas vietā ($90,00 \pm 4,00$) un divas reizes lielāks pretsitiena vietā ($62,33 \pm 8,62$) nekā vidēji pārējiem sešiem grupas pacientiem. Grupas vidējais apoptotisko šūnu skaits aplūkojams 4.tabulā. Visiem notikuma vietā mirušajiem bērniem, izņemot gadu veco pacientu, apoptotisko šūnu skaits smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā bija tikai nedaudz lielāks kā traumas vietā.

1.3. Pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušu bērnu smadzeņu audu pārmaiņas

Smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietās tika konstatētas *GFAP* pozitīvas nervu šķiedras, astrocīti un to izaugumi, glijas šūnas un makrofāgi un *NF* pozitīvas nervu šķiedras, glijas šūnas un makrofāgi visiem pieciem attālinātā periodā pēc galvas traumas mirušiem bērniem. Šiem bērniem traumas vietā *GFAP* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija no vidēja līdz lielam daudzumam (++)/+++), *NF* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija mazs (+) Pretsitiena vietā *GFAP* un *NF* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija liels (+++). Visiem pieciem attālinātā periodā pēc galvas traumas mirušajiem bērniem tika konstatēti *IL-6* pozitīvi garozas piramidālie neironi, *IL-6* un *IL-10* pozitīvas glijas šūnas smadzeņu baltajā vielā, un to skaits traumas vietā bija mazāks nekā pretsitiena vietā. *IL-6* un *IL-10* pozitīvo glijas šūnu skaits smadzeņu baltajā vielā gan traumas, gan pretsitiena vietās bija mazāks nekā notikuma vietā mirušajiem pacientiem (3. tabula). Apoptotiskās šūnas tika konstatētas visu piecu pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušu bērnu smadzeņu baltajā vielā. Jāatzīmē, ka gadu un 10 mēnešus vecajam bērnam apoptotisko šūnu skaits traumas vietā bija lielāks ($68,67 \pm 3,48$) nekā pretsitiena vietā ($59,33 \pm 6,18$) un lielāks nekā vidēji pārējiem četriem šīs grupas pusaudžiem, kuriem apoptotisko šūnu skaits traumas un pretsitiena vietās bija atšķirīgs. Grupas vidējais apoptotisko šūnu skaits aplūkojams 4.tabulā.

Galvas traumas pacientu vidējais citokīnu imūnpozitīvo smadzeņu šūnu skaits traumas un pretsitienu vietās

	Grupa	IL-6 PVPN, PV (vid.±SD)	IL-6 PVPN, TV (vid.±SD)	IL-6 BV, PV (vid.±SD)	IL-6 BV, TV (vid.±SD)	IL-10 BV, PV (vid.±SD)	IL-10 BV, TV (vid.±SD)
Vid. skaits	1.grupa - bērni m.n.v.	43,81± 2,59	35,81± 2,76	93,52± 4,11	78,33± 3,05	37,33± 2,29	21,33± 1,39
Vid. skaits	2. grupa – bērni m.a.p.	39,13± 2,60	29,87± 2,67	52,40± 2,73	32,27± 1,97	17,40± 1,25	6,93± 0,52
Vid. skaits	3.grupa – pieaugušie m.n.v.	43,82± 2,25	31,02± 2,53	90,33± 2,62	77,13± 3,40	38,13± 2,21	23,67± 1,57
Vid. skaits	4.grupa – pieaugušie m.a.p.	44,89± 2,82	36,44± 2,00	61,89± 2,58	37,57± 2,52	6,11± 0,94	1,45± 0,79

BV – baltā viela; g. – gadi; IL-6 – interleikīns-6; IL-10 – interleikīns-10; mēn. – mēneši; m.n.v. – miruši notikuma vietā; m.a.p. – miruši attālinātā periodā pēc traumas; PV – pretsitienu vieta; PVPN – pelēkās vielas piramidālie neironi; TV – traumas vieta; SD – šeit: standarta deviācija; vid. – vidējais

Galvas traumas pacientu vidējais apoptotisko šūnu skaits smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitienu vietās

	Grupa	Vid. apoptotisko šūnu skaits 3 redzeslaukos, PV (vid. ± SD); AI	Vid. apoptotisko šūnu skaits 3 redzeslaukos, TV (vid. ± SD); AI
Vid. skaits	1.grupa - bērni m.n.v.	37,33±14,11 (p=0,017) AI 0,48±0,04	40,47±26,31 (p=0,006); AI 0,40±0,14
Vid. skaits	2. grupa – bērni m.a.p.	50,00±8,00 (p=0,940) AI 0,48±0,04	47,83±3,66 (p=0,199); AI 0,40±0,14
Vid. skaits	3.grupa – pieaugušie m.n.v.	55,33±24,51 (p=0,014); AI 0,65±0,05	60,44±10,86 (p=0,013); AI 0,63±0,04
Vid. skaits	4.grupa – pieaugušie m.a.p.	50,67±19,92 (p=0,930); AI 0,64±0,11	59,00±19,73 (p=0,133); AI 0,77±0,05

AI – apoptotiskais indekss; g. – gadi; PV – pretsitienu vieta; SD – šeit: standarta deviācija; TV – traumas vieta; vid. – vidējais



1.4. Pēc fatālām galvas traumām notikuma vietā mirušu pieaugušo smadzeņu audu pārmaiņas

Nevienam no 13 pacientiem, kuri mira notikuma vietā, smadzeņu baltajā vielā traumas vietā netika konstatētas ne *GFAP*, ne *NF* pozitīvas neironālās struktūras. Visiem 13 pacientiem smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā tika konstatētas *GFAP* pozitīvas nervu šķiedras, astrocīti un to izaugumi, glijas šūnas un atsevišķi makrofāgi. *NF* pozitīvas nervu šķiedras, glijas šūnas un daži makrofāgi tika konstatēti 12 pacientiem. Tā kā traumas vietā netika konstatētas *GFAP* un *NF* pozitīvas smadzeņu šūnu citoskeleta struktūras, tādēļ to vidējais relatīvais daudzums netika noteikts.

Prestitiena vietā *GFAP* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums svārstījās no vidēja līdz lielam (++)/+++), *NF* pozitīvo neironālo struktūru daudzums bija vidēji liels (++) . Visiem 13 notikuma vietā mirušajiem pieaugušajiem tika konstatēti *IL-6* pozitīvi garozas piramidālie neironi, *IL-6* un *IL-10* pozitīvas glijas šūnas smadzeņu baltajā vielā, un to skaits traumas vietā bija mazāks nekā prestitiena vietā (3. tabula) Apoptotiskās šūnas notikuma vietā mirušu pieaugušo smadzeņu baltajā vielā tika konstatētas visiem 13 pacientiem gan traumas, gan prestitiena vietās. Grupas vidējais apoptotisko šūnu skaits traumas un prestitiena vietās aplūkojams 4. tabula.

1.5. Pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušu pieaugušo smadzeņu audu pārmaiņas

Visiem trijiem attālinātā periodā pēc traumas mirušajiem pieaugušajiem smadzeņu baltajā vielā traumas un prestitiena vietās tika konstatētas *GFAP* pozitīvas nervu šķiedras, astrocīti, to izaugumi, glijas šūnas un *NF* pozitīvas nervu šķiedras un glijas šūnas. Šīs grupas pacientu *GFAP* pozitīvo

neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums traumas vietā bija vidēji liels (++) , pretsitienu vietā liels (+++). *NF* pozitīvo neironālo struktūru vidējais relatīvais daudzums traumas vietā bija liels (+++), pretsitienu vietā – no liela līdz ļoti lielam (+++/++++). Visiem trijiem attālinātā periodā mirušajiem pieaugušajiem tika konstatēti *IL-6* pozitīvi garozas piramidālie neironi, *IL-6* un *IL-10* pozitīvas glijas šūnas smadzeņu baltajā vielā, un to skaits traumas vietā bija mazāks nekā pretsitienu vietā (3. tabula). Apoptotiskās šūnas attālinātā periodā pēc traumas mirušo pieaugušo smadzeņu baltajā vielā tika konstatētas visiem trijiem pacientiem gan traumas, gan pretsitienu vietās (4. tabula).

2. Klīniskā pētījuma rezultāti

Visiem klīniskā pētījuma pacientiem gan kontroles pacientiem, gan galvas traumas pacientiem asins serumā tika noteikti 10 biomarķieri – *IL-1β*; *IL-4*; *IL-6* un kontroles grupas pacientu biomarķieru *IL-1β*; *IL-4*; *IL-12* un *IL-17* asins seruma koncentrācija bija vājāka par 3,2 pg/mL. Tā kā šo biomarķieru seruma koncentrācija bija zemāka par ražotāja noteikto zemāko standarta koncentrāciju, šos biomarķierus no turpmākas izpētes izslēdzām.

2.1. Kontroles grupas pacientu dati

Kontroles grupas pacienti tika sadalīti divās grupās - no mēneša līdz diviem gadiem pieci bērni un no diviem līdz septiņiem gadiem 11 bērni. Iegūtie rezultāti parādīja, ka kontroles grupas pacientiem līdz 2 gadu vecumam citokīnu seruma koncentrāciju mediānas ir divas reizes augstākas nekā kontroles grupas pacientiem no diviem līdz septiņiem gadiem (5. tabula)

No mēneša līdz divu gadu un no divu līdz septiņu gadu vecu kontroles grupas pacientu citokīnu koncentrāciju asins seruma mediānu vērtības

Pacienta kārtas numurs	Pac. grupa	<i>IL-6</i> pg/mL	<i>IL-8</i> pg/mL	<i>IL-10</i> pg/mL	<i>EGF</i> pg/mL	<i>MCP-1</i> pg/mL	<i>INF-α</i> pg/mL
Mediāna	0-2 g	<3,2	13,20	6,02	122,10	637,89	19,45
IQR	X	0	33,19	38,14	225,82	332,71	11,33
Mediāna	2-7 g	<3,2	8,27	3,87	41,37	335,78	14,34
IQR		0	4,10	3,31	48,54	139,93	5,19

EGF – epidermālais augšanas faktors; g. – gadi; *IL-6* – interleikīns-6; *IL-8* – interleikīns-8; *IL-10* – interleikīns-10; *INF-α* – alfa interferons; *IQR* – starpkvartīru izkliede; *MCP-1* – monocītu hemotakses proteīns-1; mēn. – mēneši; pac. – pacienti; pg/mL – pikogrami/mililitrā

2.2. Dati par dažādas smaguma pakāpes galvas traumu guvušu bērnu grupu vecumā no viena mēneša līdz diviem gadiem

Šajā grupā tika iekļauti astoņi bērni ar dažāda smaguma pakāpes galvas traumām – pieciem bērniem vieglas, diviem – vidēji smagas un vienam – smaga galvas trauma (*HT*). No visiem pirmās grupas pacientiem salīdzinoši augstākās seruma *IL-6* koncentrācijas tika konstatētas pacientiem ar vidēji smagām (30,81 un 34,56 pg/mL) un smagu *HT* (36,97 pg/mL) un ar atšķirīgu koncentrācijas pieaugumu četrās dienās pēc traumas. *IL-8* seruma koncentrācija pirmās grupas pacientiem četrās dienās pēc traumas bija dažādas – vieglajām *HT* no 5,35 – 65,94 pg/mL, vidēji smagajām un smagajām *HT* no 30,42 – 71,17 pg/mL četrās dienās pēc traumas. Pirmās grupas pacientiem ar vieglām *HT* netika konstatētas būtiskas asins seruma citokīna *IL-10* koncentrāciju izmaiņas četrās dienās pēc traumas (<3,2 – 22,94 pg/mL). Visaugstākā *IL-10* seruma koncentrācija tika konstatēta pacientam ar vidēji smagu *HT* pirmajā dienā pēc traumas (71,17 pg/mL). Četriem pirmās grupas pacientiem ar vieglām *HT* asins seruma *EGF* koncentrācija četrās dienās pēc traumas mainījās ļoti līdzīgi – no

pirmās līdz trešajai dienai pēc traumas samazinājās no 196,26_{minimālā}/437,69_{maksimālā} pg/mL līdz 79,35_{minimālā}/318,92_{maksimālā} pg/mL, bet ceturtajā dienā – paaugstinājās līdz 290,85_{minimālā}/516,64_{maksimālā} pg/mL. Pacientiem ar vidēji smagām HT un smagas HT pacientam seruma EGF koncentrācijas četrās dienās pēc traumas mainījās viļņveidīgi robežās no 9,34 līdz 132,96 pg/mL, neiezīmējot kopīgu koncentrāciju tendenci. Četriem pirmās grupas pacientiem ar vieglām HT asins seruma MCP-1 koncentrācijas četrās dienās pēc traumas bija nemainīgas, izņemot vienu pacientu, kuram seruma MCP-1 koncentrācija bija divas reizes lielāka un četrās dienās pēc traumas samazinājās no 1170,53 līdz 828,67 pg/mL. Vidēji smagas HT pacientiem seruma MCP-1 koncentrācijas bija ļoti atšķirīgas robežās no 266,82 līdz 1419,18 pg/mL. Pacientam ar smagu HT būtiskas seruma MCP-1 koncentrāciju atšķirības četrās dienās pēc traumas netika novērotas. Visiem pieciem pirmās grupas pacientiem ar vieglām HT netika konstatētas krasas seruma INF- α koncentrāciju izmaiņas četrās dienās pēc traumas. Seruma INF- α koncentrācija mainījās robežās no 13,27 pg/mL līdz 31,73 pg/mL. Līdzīgas seruma koncentrācijas četrās dienās pēc traumas uzrādīja viens vidēji smagas HT pacients un pacients ar smagu HT. Vislielākā seruma INF- α koncentrācija bija vērojama mēnesi vecajam pacientam ar vidēji smagu HT no 30,19 pg/mL līdz 42,11 pg/mL.

2.3. Dati par dažādas smaguma pakāpes galvas traumā guvušu bērnu grupu vecumā no diviem līdz septiņiem gadiem

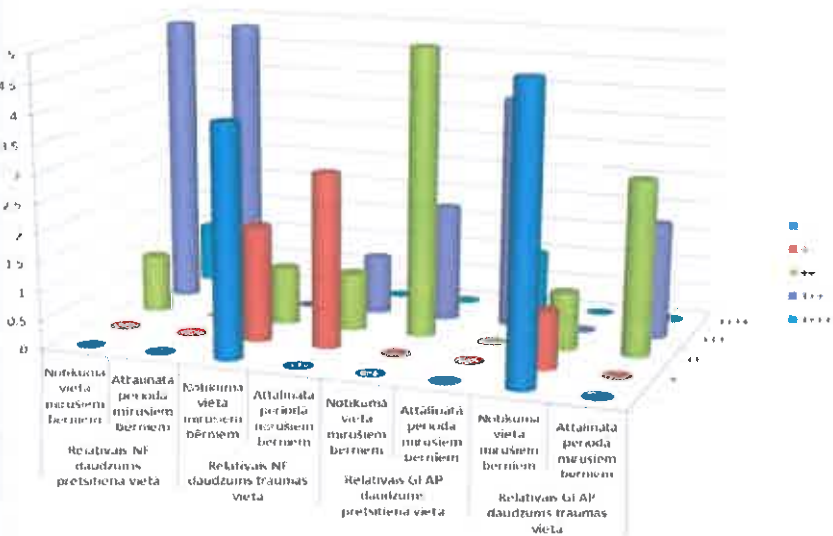
Šajā grupā tika iekļauti desmit bērni vecumā no diviem līdz septiņiem gadiem ar dažāda smaguma pakāpes galvas traumām – trīs bērni ar vieglām, četri bērni -- ar vidēji smagām un trīs bērni -- ar smagām galvas traumām (HT). Palielinātas seruma IL-6 koncentrācijas tika novērotas septiņiem otrās grupas pacientiem: vienam pacientam ar vieglu HT līdz 34,56 pg/mL, visiem četriem pacientiem ar vidēji smagām HT, it īpaši atzīmējot divus no tiem ar

seruma koncentrācijas palielināšanos līdz 450,96 un 533,40 pg/mL, un diviem pacientiem ar smagām *HT*. Visiem trijiem otrās grupas pacientiem ar vieglām *HT* asins seruma *IL-8* koncentrācija mainījās no 4,48 pg/mL līdz 32,80 pg/mL. Visiem četriem pacientiem ar vidēji smagām *HT* bija palielinātas seruma *IL-8* koncentrācijas un četrās dienās pēc traumas mainījās viļņveidīgi no 6,89 līdz 754,96 pg/mL. Visiem trijiem pacientiem ar smagām *HT* bija palielinātas seruma *IL-8* koncentrācijas, bet četrās dienās pēc traumas neuzrādīja krāsas koncentrāciju svārstības no 3,23 līdz 76,13 pg/mL. No otrās grupas pacientiem tikai diviem bērniem ar smagām *HT* tika atzīmētas palielinātas seruma *IL-10* koncentrācijas – no 12,39 līdz 39,67 pg/mL. Pārējiem astoņiem pacientiem, neatkarīgi no traumas smaguma, seruma *IL-10* koncentrāciju izmaiņas četrās dienās pēc traumas bija nenozīmīgas. Visiem trijiem pirmās grupas pacientiem ar vieglām *HT* bija palielinātas seruma *EGF* koncentrācijas četrās dienās pēc traumas robežās no 50,62 līdz 365,00 pg/mL. Visiem četriem vidēji smagas un trijiem smagas *HT* pacientiem četrās dienās pēc traumas asins seruma *EGF* koncentrācijas mainījās viļņveidīgi. Vidēji smagas *HT* pacientiem robežās no 50,52 līdz 226,21 pg/mL, smagas *HT* pacientiem robežās no 34,28 līdz 146,88 pg/mL. Visiem otrās grupas pacientiem tika konstatētas palielinātas seruma *MCP-1* koncentrācijas. Diviem otrās grupas pacientiem – vienam ar vieglu un vienam ar vidēji smagu *HT* seruma *MCP-1* koncentrācijas četrās dienās pēc traumas mainījās viļņveidīgi, plašā amplitūdā no 343,29 līdz 1605,96 pg/mL. Pārējiem astoņiem šīs grupas bērniem seruma *MCP-1* koncentrācijas četrās dienās pēc traumas mainījās 200 ± 50 pg/mL robežās. Visiem otrās grupas pacientiem ar vieglām *HT* četrās dienās pēc traumas netika fiksētas būtiskas seruma *INF- α* koncentrācijas izmaiņas. Vieglas *HT* pacientiem mainījās robežās no 10,75 līdz 28,45 pg/mL, vidēji smagas *HT* pacientiem no 6,98 līdz 50,63 pg/mL un smagas *HT* pacientiem, kuriem bija salīdzinoši augstākas seruma *INF- α* koncentrācijas nekā pārējiem šīs grupas bērniem - no 14,27 līdz 44,23 pg/mL.

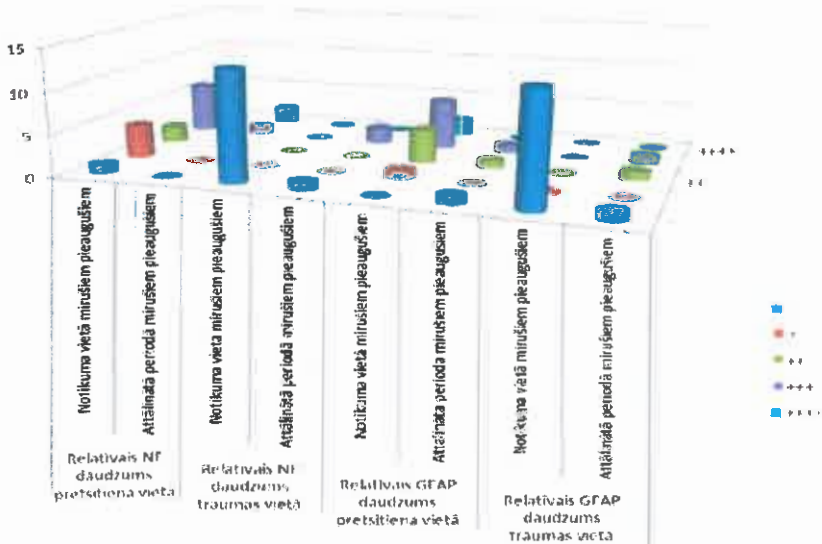
STATISTISKĀ DATU ANALĪZE

Datu statistiskajā apstrādē tika izmantotas neparametriskās statistikas metodes - Mena - Vitnija (*Mann Whitney*) *U* testu divu neatkarīgu grupu salīdzināšanai (notikuma vietā mirušos ar attālinātā laikā pēc traumas mirušajiem pacientiem) un Vilkoksona zīmju rangu (*Wilcoxon Signed Ranks*) testu divu atkarīgu grupu salīdzināšanai (traumas vietu ar pretsitiena vietu).

Pacienti tika sadalīti divās grupās – bērnos un pieaugušajos. Katra no šīm grupām tika sadalīta divās apakšgrupās: 1) notikuma vietā mirušie un pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušie bērni (1. grafiks); 2) notikuma vietā mirušie un pēc fatālām galvas traumām attālinātā periodā mirušie pieaugušie (2. grafiks).



1. grafiks. Relatīvais GFAP un NF daudzums notikuma vietā un attālinātā periodā pēc traumas mirušu bērnu smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietās



2. grafiks. Relatīvais GFAP un NF daudzums notikuma vietā un attālinātā periodā pēc traumas mirušu pieaugušo smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietās

Statistiski ticamas atšķirības smadzeņu baltajā vielā tika atrastas pozitīvajām *GFAP* struktūrām tikai starp abām bērnu apakšgrupām pretsitiena vietās (*Mann-Whitney U* tests, $p=0,015$ un *Wilcoxon Signed Ranks* tests, $p=0,030$) un pozitīvajām *NF* struktūrām pretsitiena vietās tikai starp abām pieaugušo grupām (*Mann-Whitney U* tests, $p=0,019$ and *Wilcoxon Signed Ranks* tests, $p=0,025$).

Visiem pacientiem -- gan notikuma vietā mirušajiem (bērni un pieaugušie), gan tiem, kuri mira attālinātā periodā pēc traumas (bērni un pieaugušie), **interleikīna-6 (*IL-6*)** pozitīvo piramidālo neironu skaits smadzeņu garozā traumas vietā bija mazāks nekā pretsitiena vietā. Sīkāka informācija par vidējo *IL-6* pozitīvo piramidālo neironu skaitu un starpkvartīļu izkliedi (*IQR*) aplūkojama 6. tabulā. Salīdzinot abas neatkarīgās grupas – notikuma vietā

mirušo pacientu grupu un attālinātā periodā pēc traumas mirušo pacientu grupu, netika atrasta statistiski ticama atšķirība starp *IL-6* pozitīvo garozas piramidālo neironu skaitu pretsitiena vietā (*Mann-Whitney U* tests, $p = 0.890$) un starp abu grupu *IL-6* pozitīvo garozas piramidālo neironu skaitu traumas vietā (*Mann-Whitney U* tests, $p = 0.827$). Izmantojot *Wilcoxon Signed Ranks* testu divām atkarīgām izlasēm, tika konstatēta statistiski ticama atšķirība starp pretsitiena un traumas vietām *IL-6* pozitīvo piramidālo neironu skaitu pacientiem, kuri mira attālinātā periodā pēc traumas (*Wilcoxon Signed Ranks* tests, $p < 0,001$), un notikuma vietā mirušajiem pacientiem (*Wilcoxon Signed Ranks Test*, $p = 0,011$) (6. tabula).

Visiem pacientiem -- gan notikuma vietā mirušajiem, gan tiem, kuri mira attālinātā periodā pēc galvas traumas (*HT*), -- **interleikīna-6 (*IL-6*)** un **interleikīna-10 (*IL-10*)** pozitīvo glijas šūnu skaits smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija mazāks nekā pretsitiena vietā. Sīkāka informācija par vidējo *IL-6* un *IL-10* pozitīvo glijas šūnu skaitu un starpkvartīļu izkliedi (*IQR*) aplūkojama 6. tabulā. Starp notikuma vietā mirušo pacientu grupu un pēc *HT* attālinātā periodā mirušo pacientu grupu tika konstatētas *IL-6* un *IL-10* pozitīvo glijas šūnu skaita **statistiski ticamas atšķirības** smadzeņu baltajā vielā **traumas vietā** (*Mann-Whitney U* tests traumas vietā $p_{IL-6} < 0,001$; $p_{IL-10} < 0,001$) un smadzeņu baltajā vielā **pretsitiena vietā** (*Mann-Whitney U* tests, $p_{IL-6} < 0,001$; $p_{IL-10} < 0,001$), tas norāda, ka notikuma vietā mirušo pacientu grupā *IL-6* un *IL-10* pozitīvo glijas šūnu skaits bija statistiski ticami lielāks nekā attālinātā laikā pēc traumas mirušo pacientu grupā. Izmantojot *Wilcoxon Signed Ranks* testu divām atkarīgām izlasēm, tika konstatētas **statistiski ticamas atšķirības** starp *IL-6* un *IL-10* pozitīvo glijas šūnu skaitu traumas un pretsitiena vietās smadzeņu baltajā vielā pacientiem, kuri mira notikuma vietā (*Wilcoxon Signed Ranks* tests, $p_{IL-6} = 0,038$; $p_{IL-10} = 0,050$), un tiem, kuri mira attālinātā periodā pēc traumas (*Wilcoxon Signed Ranks* tests, $p_{IL-6} < 0,001$; $p_{IL-10} < 0,001$), (6. tabula).

IL-6 pozitīvo piramidālo neironu, glijas šūnu un pozitīvo IL-10 glijas šūnu vidējie lielumi, starpkvarģu izkliedes un statistiskās ticamības *

	Attālinātā laikā pēc traumas mirušie pacienti				Notikuma vietā mirušie pacienti				<i>p</i> ¹
	mazākā vērtība	lielākā vērtība	mediāna	starpkv. izkliede	mazākā vērtība	lielākā vērtība	mediāna	starpkv. izkliede	
PVPN pretsit. v. IL-6	13	67	41	27,8	34	53	44	10,5	0,890
PVPN traumas v. IL-6	6	49	34,5	17,8	18	42	33	14,5	0,827
<i>p</i> ²	<0,001*				0,011*				
BV pretsit. v. IL-6	21	75	61	23,5	76	113	101	25	<0,001*
BV traumas v. IL-6	8	52	36	9,3	67	91	76	15	<0,001*
<i>p</i> ²	<0,001*				0,038*				
BV pretsit. v. IL-10	4	33	12	9	22	51	37	18,5	<0,001*
BV traumas v. IL-10	0	18	4	5	12	31	25	13	<0,001*
<i>p</i> ²	<0,001*				0,050*				

Prestit. v. – pretsitiena vieta; BV – baltā vieta; PVPN – pelēkās vietas piramidālie neironi

*p*¹ – Mena--Vitnija (*Mann-Whitney*) tests divām neatkarīgām izlasēm, salīdzinot attālinātā laikā pēc traumas mirušos pacientus ar notikuma vietā mirušajiem pacientiem;

*p*² – Vilksokona (*Wilcoxon*) tests divām atkarīgām izlasēm, salīdzinot rādītājus pretsitiena un traumas vietā

Apoptotisko šūnu skaits tika salīdzināts smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietā bērnu un pieaugušo grupās. Bērnu grupā smadzeņu baltajā vielā vidējais apoptotisko šūnu skaits traumas vietā bija $42,57 \pm 22,35$, pieaugušo grupā -- $59,96 \pm 14,05$. Bērnu grupā smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā vidējais apoptotisko šūnu skaits bija $40,95 \pm 13,78$ pieaugušo grupā -- $53,78 \pm 22,80$

Salīdzinot visas četras pētījumā iekļautās grupas, tika iegūti šādi rezultāti: notikuma vietā mirušo bērnu grupā četriem bērniem, vecākiem par diviem gadiem tika novērota **korelācija starp bērna vecumu un apoptotisko šūnu skaita pieaugumu traumas un pretsitiena vietā** ($p_{\text{traumas vietā}}=0,006$; $p_{\text{pretsit. vietā}}=0,017$). Sagrupējot bērnus pēc vecuma augošā secībā, tika novērots apoptotisko šūnu skaita pieaugums gan traumas, gan pretsitiena vietās; Notikuma vietā mirušo pieaugušo grupā tika konstatētas **statistiski ticamas atšķirības** starp apoptotisko šūnu skaitu traumas vietās ($p=0,013$) un pretsitiena vietās ($p=0,014$); attālinātā periodā pēc traumas mirušo bērnu un pieaugušo grupās notika atrastas statistiski ticamas atšķirības apoptotisko šūnu skaitam smadzeņu baltajā vielā starp traumas un pretsitiena vietām

Klīniskā pētījuma statistiski apstrādāto datu analīze

Pirmajā grupā statistiski ticamas seruma koncentrāciju atšķirības visās četrās dienās pēc traumas, salīdzinājumā ar atbilstošā vecuma kontroles grupu, uzrādīja tikai seruma ***IL-6*** (*Mann Whitney U* tests $p_{\text{IL-61}}=0,004$; $p_{\text{IL-62}}=0,009$; $p_{\text{IL-63}}=0,014$; $p_{\text{IL-64}}=0,009$). Otrajā grupā statistiski ticamas atšķirības tika konstatētas starp seruma ***IL-6***_{1;2;4} koncentrācijām pirmajā, otrajā un ceturtajā dienā pēc traumas (*Mann Whitney U* tests $p_{\text{IL-61}}=0,003$; $p_{\text{IL-62}}=0,016$; $p_{\text{IL-64}}=0,003$); asins seruma ***EGF***_{2;3;4} koncentrācijām otrajā, trešajā un ceturtajā dienā pēc traumas (*Mann Whitney U* tests $p_{\text{EGF2}}=0,024$; $p_{\text{EGF3}}=0,011$;

$p_{EGF4}=0,014$) un asins seruma *INF- α_2* koncentrācijām otrajā dienā pēc traumas, salīdzinājumā ar atbilstošā vecuma kontroles grupu (*Mann Whitney U tests* $p_{INF-\alpha_2}=,049$).

Aprēķinot *Spearman* pirmās un otrās grupas pacientu sešu biomarkieru seruma koncentrāciju korelācijas četrās dienās pēc traumas, tika salīdzinātas gan viena biomarkiera seruma koncentrāciju korelācijas četru dienu periodā, gan biomarkieru koncentrāciju savstarpējās korelācijas četrās dienās pēc traumas. Pirmajā grupā statistiski ticamas viena biomarkiera seruma koncentrāciju korelācijas četrās dienās pēc traumas uzrādīja visi seši biomarkieri, bet savstarpēji ne visās četrās dienās pēc traumas. Otrajā grupā statistiski ticamas viena biomarkiera seruma koncentrāciju korelācijas četru dienu laikā pēc traumas uzrādīja pieci biomarkieri – *IL-6; IL-8; IL-10; EGF* un *MCP-1*, bet savstarpēji ne visās četras dienās pēc kārtas. Par ticamām biomarkieru seruma koncentrāciju korelācijām tika uzskatītas tās, kurām korelācijas koeficients r bija $>0,7$ un ticamības līmenis $p < 0,05$.

Pirmās grupas pacientu seruma biomarkieru koncentrāciju rezultāti parādīja, ka četriem pacientiem ar vieglām HT seruma *EGF* koncentrācijas izmaiņas bija līdzīgas četrās dienās pēc traumas. Iegūtos datus apstrādājot ar neparametrisko statistikas metodi – *Wilcoxon Signed Ranks* testu, kurā ticamas seruma *EGF* koncentrāciju korelācijas tika noteiktas starp rezultātiem pirmajā un otrajā dienā pēc traumas ($p=0,048$) un starp rezultātiem trešajā un ceturtajā dienā pēc traumas ($p=0,048$).

Šādas ciešas statistiski ticamas, it īpaši, vairākas viena biomarkiera koncentrāciju korelācijas četrās dienās pēc traumas varētu liecināt par konkrētā biomarkiera nozīmi galvas traumas diagnostikā un iznākuma prognozēšanā.

Pirmās grupas pacientiem novērojām atsevišķu seruma biomarkieru koncentrāciju savstarpējās korelācijas gan vienā, gan vairākās dienās pēc traumas. Savstarpēji ciešas un statistiski ticamas koncentrāciju korelācijas asins serumā tika konstatētas starp *IL-8* un *EGF*, starp *IL-6* un *EGF* un starp *IL-6*

un *IL-8* ($r>0,7$; $p<0,05$). Otrās grupas pacientiem tika konstatēts lielāks skaits atsevišķu biomarkieru koncentrāciju savstarpējās korelācijas gan vienā, gan vairākās dienās pēc traumas nekā pirmās grupas pacientiem. Savstarpēji ciešas un statistiski ticamas asins seruma koncentrāciju korelācijas uzrādīja *IL-8* un *MCP-1*, *IL-8* un *INF- α* , *IL-8* un *IL-6*, *INF- α* un *IL-6*, *IL-10* un *EGF* un *MCP-1* un *INF- α* ($r>0,7$; $p<0,05$).

Šādas savstarpējas un ciešas atsevišķu biomarkieru koncentrāciju korelācijas četrās dienās pēc traumas norāda uz sekojošām sakarībām: ja korelācijas koeficients r ir pozitīvs, tad palielinoties viena biomarkiera koncentrācijai, pieaug arī otra biomarkiera koncentrācija, ja korelācijas koeficients r ir negatīvs, tad viena biomarkiera koncentrācijai palielinoties, otra biomarkiera koncentrācija samazināsies. Tas varētu nozīmēt to, ka, ja gadījumā nav iespējams noteikt visus vēlamos *HT* biomarkierus diagnostikas nolūkos, tad, ja diagnostiskajā kitā ir viens no diviem savstarpēji korelējošiem biomarkieriem, būs iespējams hipotētiski paredzēt arī otra koncentrācijas palielināšanos vai samazināšanos, atkarībā no uzrādītā korelācijas koeficienta vērtības – pozitīvas vai negatīvas.

DISKUSIJA

Pirms diskusijas par pētījumā iegūtajiem rezultātiem morfoloģijas sadaļā, jāatzīmē, ka pētījumi par galvas traumas izraisītajiem bojājumiem smadzeņu audos pārsvarā ir veikti ar eksperimenta dzīvniekiem laboratorijas apstākļos, modelējot kontrolētas galvas traumas. Tādēļ diskusijas sadaļa pamatā balstīta uz literatūrā pieejamiem datiem par pētījumiem ar eksperimenta dzīvniekiem.

Mūsu pētījuma rezultāti rāda, ka abu grupu pacientiem -- gan tiem, kuri mira notikuma vietā, gan tiem, kuri mira attālinātā periodā pēc traumas, GFAP un NF smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija mazākā daudzumā nekā pretsitiena vietā. Lielākajai daļai bērnu, kuri mira notikuma vietā, un visiem notikuma vietā mirušajiem pieaugušajiem smadzeņu baltajā vielā traumas vietā netika atrastas GFAP un NF pozitīvas neironālās struktūras. Fatāla galvas trauma, kuras rezultātā iestājas tūlītēja nāve notikuma vietā vai īsā periodā pēc traumas, ir ļoti stipru, kombinētu mehānisku spēku iedarbības rezultāts, pēc kuriem traumas vietā smadzeņu bojātās struktūras sajaucas ar plašām hematomām. Šāda morfoloģiska atradne tiek fiksēta nāves brīdī, kas nedod iespēju primārajam bojājumam pāriet sekundārajā, t. i., bojātie smadzeņu audi vēl nav iesaistījušies iekaisumu veicinošos procesos, kuru rezultātā tiktu izdalīti iekaisumu stimulējošas, neiroķīmiski aktīvas vielas un smadzeņu struktūru bojājumu apliecinoši biomarķieri. Tā kā šādiem pacientiem nāve iestājas tūlīt pēc traumas, tad periodā, kas ilgst tikai minūtes, šīs iepriekš minētās reakcijas nav paspējušas notikt.

Atsevišķi tika aplūkota notikuma vietā mirušo bērnu grupa, kuras rezultāti atšķirās no pieaugušo pacientu rezultātiem. Šādu rezultātu atšķirību izskaidrojām ar smadzeņu dinamiskās attīstības teoriju vecumā līdz diviem gadiem, kad visi bioķīmiskie procesi, kas saistīti ar smadzeņu attīstību, norit

daudz straujāk nekā pieaugušajiem. Tādēļ nebija pārsteidzoši, ka dažiem notikuma vietā mirušajiem bērniem arī traumas vietā tika konstatētas pozitīvas neironālas struktūras. Bērnu un pieaugušo pacientu grupu rezultāti parāda, ka notikuma vietā mirušo bērnu grupā *GFAP* un *NF* imūnreaktīvo struktūru vidējais daudzums traumas vietā bija lielāks nekā notikuma vietā mirušo pieaugušo grupā, bet pretsitiena vietā līdzīgs. Īpaša uzmanība tika pievērsta abiem bērniem vecumā līdz diviem gadiem – gadu vecajam bērnam, kurš mira notikuma vietā, un gadu un 10 mēnešus vecajam bērnam, kurš mira divas dienas pēc traumas. Abiem bērniem smadzeņu baltajā vielā traumas vietā tika konstatēts vidējs daudzums (++) *GFAP* un *NF* pozitīvo neironālo struktūru, bet gadu un 10 mēnešus vecajam bērnam, kurš mira pēc traumas attālinātā periodā, smadzeņu baltajā vielā traumas vietā tika konstatēts lielāks daudzums *GFAP* pozitīvo neironālo struktūru nekā uz vietas mirušajam gadu vecajam bērnam. *NF* pozitīvo struktūru daudzums abiem bērniem bija līdzīgs. Šādu smadzeņu reakciju bērniem līdz divu gadu vecumam varētu izskaidrot ar smadzeņu attīstības specifiku šajā vecumā. Proti, bērniem līdz divu gadu vecumam uz aktīva šūnu diferencēšanās fona norit pēdējie neiroblastu mitozes procesi (*Ross and Pawlina, 2006*). Ja dzīves periodā līdz divu gadu vecumam *CNS* tiek pakļauta mehānisku spēku iedarbībai, tad to šūnu gan nekrotiskā, gan apoptotiskā nāve notiek daudz dinamiskāk nekā vecākiem bērniem un pieaugušajiem (*Lenroot and Giedd, 2006*). Tāpēc ar lielu varbūtību var apgalvot, ka dinamisks starpdiedziņu veidošanās mehānisms bērnu smadzeņu baltajā vielā tūlīt pēc traumas liecina par bērna smadzeņu plasticitāti un paš aizsardzības spējām. Tas īsā periodā nodrošina glijas rētas veidošanos. Šādi tiek ierobežots primārais bojājums un mazināta sekundārā bojājuma izplatība, arī iekaisuma mediatoru degradējošā ietekme uz *penumbras* zonas audiem un tālāk esošajiem veselajiem smadzeņu audiem (*Faulkner et al., 2004*).

Pētījumos ar eksperimenta dzīvniekiem – žurkām un pelēm zinātnieku grupa konstatēja, ka žurkām pēc kontrolētām vieglām galvas traumām (*HT*)

GFAP imūnreaktīvas pārmaiņas astrocītos progresē no 24. stundas, sasniedzot maksimālo daudzumu garozas bojājumu zonā trešajā dienā pēc *HT*, bet smadzeņu baltajā vielā paliekot neizmainītam. (Ekmark-Lewén et al., 2010). Cita neirozinātnieku grupa (Bolouri et al., 2012), eksperimentā ar žurkām, imitējot futbolistu gūtas *HT*, kas līdzinās vieglām vai vidēji smagām *HT*, nekonstatēja reaktīvu astrogliozi pirmajā dienā pēc vairākām atkārtoti kontrolētām *HT*. Tās tika fiksētas tikai pēc 7–10 dienām. Tas ir pretrunā ar *Li* un *Graham* pētījumiem eksperimenta dzīvniekiem kaķiem un žurkām, kam kontrolēto galvas traumu rezultātā smadzeņu baltajā vielā *GFAP* imūnreaktīvās struktūras subkortikāli tiek konstatētas jau pirmās diennakts laikā (*Li et al.*, 1998; *Graham et al.*, 2000). 2012. gada pētījumā reaktīvie astrocīti bija novērojami tikai traumas vietā pēc atkārtotiem sitieniem pa žurku galvaskausiem, bet netika novēroti neviena dzīvnieka smadzeņu baltās vielas pretsitienu vietā (*Bolouri et al.*). Mūsu pētījumā, tāpat kā *Bolouri et al.* 2012. gada pētījumā, īpaši pieaugušo pacientu grupā, kuri mira pēc traumas attālinātā periodā, vislielākais *GFAP* un *NF* pozitīvo neironālo struktūru daudzums tika konstatēts pacientiem, kuri pēc traumas bija nodzīvojuši visilgāk no 7-- 15 dienai. Tomēr tika konstatēta arī atšķirība -- *GFAP* un *NF* pozitīvās neironālās struktūras visvairāk tika novērotas tieši pretsitienu, nevis traumas vietā. Domājams, ka traumas vietā, kur ir daudz izteiktāka mehānisko spēku iedarbība ar totālu audu bojājumu, smadzeņu bojāto audu iekaisumu veicinošās reakcijas norit lēnāk nekā audos, kas guvuši satricinājumu pretsitienu vietā. Tas atbilst *Vershkratsky et al.*, 2012. gada pētījuma atzinumiem, ka traumatiska smadzeņu bojājuma gadījumā astroglijas reakcija ir atkarīga no pieliktā mehāniskā spēka un tā izraisītā audu bojājuma pakāpes. Līdz ar to aktīvāku astroglijas reakciju var izraisīt mērens sitienu spēks, nevis masīvs sitiens, kura rezultātā astroglijas aktivitāte var būt ierobežota vai pat nomākta.

Salīdzinot, cik dienu pēc galvas traumas nodzīvoja bērni un cik – pieaugušie, un vidējo *GFAP* imūnreaktīvo struktūru daudzumu, jāsecina, ka

bērniem, kuri pārsvarā pēc traumas nodzīvoja divas diennaktis, bija pieaugušajiem līdzīgs *GFAP* pozitīvo neironālo struktūru daudzums, kuri pēc traumas nodzīvoja 7–15 dienas. Šie dati sakrīt ar amerikāņu pētījumiem par eksperimenta pelēm (*Sandhir et al.*, 2004). Šajā pētījumā tika konstatēts, ka vecākām pelēm pēc kontrolētas galvas traumas smadzeņu baltajā vielā dažādos periodos *hippocampus* rajonā tika konstatēta pakāpeniski pieaugoša *GFAP* ekspresija un reaktīvo astrocītu skaits. Jaunākām pelēm tika konstatēta momentāna *GFAP* ekspresija un liels reaktīvo astrocītu skaits.

Aplūkojot abu grupu pacientu vecumu un laiku, kādu viņi nodzīvoja pēc traumas, tika konstatēts, ka pieaugušajiem, kuri pēc traumas nodzīvoja ilgāk nekā bērni – no 7 līdz 15 dienām, starpdiedziņu *NF* pozitīvo neironālo struktūru relatīvais daudzums smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija ievērojami lielāks nekā bērniem, kuri pēc traumas nodzīvoja no 36 stundām līdz 7 dienām. Arī pretsītienu vietā *NF* pozitīvo neironālo struktūru daudzums pieaugušo pacientu grupā bija lielāks nekā bērnu grupā. Tas atbilst pētījumam par eksperimenta peļu *NF* izmaiņām periodā pēc traumas. Šajā pētījumā vieglas traumas gadījumā *NF* pozitīvo neironālo struktūru reakcija tika konstatēta pat līdz vienam mēnesim pēc traumas, kad acīmredzot *NF* defosforilēšanās veicināja neironu izdzīvošanu, novēršot to bojājumu vai disfunkciju (*Huh et al.*, 2002). Pētījumā par smagu eksperimentālu galvas traumā žurkām *NF* pozitīvu struktūru zudums smadzeņu garozā ipsilaterāli traumas vietai tika konstatēts jau trīs stundas pēc traumas (*Posmantur et al.*, 1994). Šie dati atbilst mūsu pētījuma atradnei par notikuma vietā mirušajiem pacientiem – tikai dažiem notikuma vietā mirušajiem bērniem tika konstatētas *NF* pozitīvas struktūras, bet tas netika atrastas nevienam notikuma vietā mirušajam pieaugušajam.

Pēdējos gados zinātnieku interese pievērsta smadzeņu šūnu citoskeleta biomarkieru – *GFAP* un aminoskābju smago ķēžu fosforilētā *NF* (*pNF-H*) izpētei, to asins seruma koncentrāciju korelācijai ar galvas traumas smagumu

un iznākumu. Pieaugusi arī *GFAP* loma bērnu galvas traumu prognozēšanā un ārstēšanā, nosakot faktora koncentrāciju asins serumā. *Missler et al.* 1999. gada pētījumā tika noteikta *GFAP* seruma koncentrācija pieaugušajiem. Faktora koncentrācija, kas ir lielāka par 0,033 µg/L, apstiprina smadzeņu patoloģiju, bet koncentrācija, kas ir lielāka par 15 µg/L, apstiprina letālu iznākumu. Zīdītājiem un cilvēkiem seruma *pNF-H* koncentrāciju normas robežas vēl līdz galam nav noteiktas. Pašreiz tiek izstrādātas daudz jutīgākas *pNF-H* noteikšanas metodes. Šajā kontekstā mūsu dati par *NF* lokālo atradni pacientiem, kuri mira notikuma vietā, un pacientiem, kuri pēc *HT* nodzīvoja ilgāk par 24 stundām, arī uzskatāmi par vērtīgu oriģinālu atradni.

Galvas traumas patofizioloģisko procesu norisi un apjomu nosaka hipoksijai un/vai hipotensija, ar sekojošu cerebrālās išēmijas attīstību, kas ir viens no galvenajiem iekaisuma reakciju ierosinātājiem. (*Morganti-Kossmann et al.*, 2001). No visiem zināmajiem sekundārā smadzeņu bojājuma bioķīmiskajiem procesiem zinātnieku īpašu uzmanību izpelnījušies nekrotiska smadzeņu šūnu nāve. Šis sekundārais smadzeņu bojājuma veids saistīts ar plašu endogēno iekaisuma veicinošo molekulu dažādību un to iesaistīšanos dažādās bioķīmiskās reakcijās, atšķirīgos periodos pēc traumas, nodrošinot gan iekaisuma agonistiskus, gan iekaisuma antagonistiskus procesus smadzeņu audos *penumbras* zonā un veselajos smadzeņu audos, kas atrodas tuvumā (*Leker and Shohami*, 2002). Abu grupu pacientiem -- gan tiem, kuri mira notikuma vietā, gan tiem, kuri mira pēc traumas attālinātā periodā, ***IL-6*** pozitīvo piramidālo neironu skaits, ***IL-6*** un ***IL-10*** pozitīvo glijas šūnu skaits smadzeņu baltajā vielā traumas vietā bija mazāks nekā pretsitienu vietā. Lielāks daudzums ***IL-6*** un ***IL-10*** pozitīvo glijas šūnu tika atrastas notikuma vietā mirušo pacientu grupā gan traumas, gan pretsitienu vietās, salīdzinājumā ar attālinātā periodā pēc traumas mirušo pacientu grupu. Tas sakrīt ar austrāliešu zinātnieku pētījumu (*Frugier et al.*, 2010) par iekaisuma mediatoru klātbūtni 21 miruša cilvēka smadzeņu audos pēc fatālām galvas traumām, kurā izteikts

secinājums, ka smadzeņu audu iekaisuma reakcijas sākas jau dažas minūtes pēc traumas. Tas ir daudz agrāk, nekā līdz šim tika uzskatīts. Šo novērojumu varētu izskaidrot ar aktīvu astrocītu iesaistīšanos iekaisuma atbildes procesā -- glijas rētas veidošanā (*Schmidt et al.*, 2005). Glijas rēta strauji attīstās pēc galvas traumas, kad sekundārā bojājuma vietā uzreiz pēc primārā bojājuma sākas aktīva citokīnu produkcija. Pētījumā eksperimenta žurkām tika pierādīts, ka tūlīt pēc *HT* no neitrofilajiem leikocītiem, monocītiem un limfocītiem atbrīvojās iekaisumu veicinošie mediatori, kuru koncentrācija pēc traumas attālinātā periodā samazinājās (*Das et al.*, 2011). Tas ļauj pieņemt, ka smadzeņu baltās vielas veselo glijas šūnu, kā arī penumbas zonā ietilpstošo **veselo** glijas šūnu visaktīvākā imūnā atbilde iekaisuma reakcijas veidā notiek tūlīt pēc primārā bojājuma. Klīniskos pētījumos pierādīts, ka *IL-6*, kurš traumas rezultātā tiek atbrīvots intrakraniāli smadzeņu audos, difundē caur bojāto hemoencefālisko barjeru, nokļūst perifērajā asins cirkulācijā un veicina iekaisuma akūtās fāzes atbildes reakciju ārpus centrālās nervu sistēmas. Tās laikā *IL-6* centrālajā nervu sistēmā darbojas kā iekaisumu veicinošs citokīns, bet reģenerācijas fāzē -- kā neiroprotektīvs citokīns (*Schmidt et al.*, 2005). Analizējot mūsu pētījuma statistiski apstrādātos datus, statistiski ticamas seruma *IL-6* koncentrāciju izmaiņas abu grupu pacientiem tika konstatētas tikai no pirmās līdz otrajai dienai pēc traumas. Zināmā mērā tas sasaucas ar starptautisko itāliešu--amerikāņu zinātnieku grupas pētījumu par bērniem pēc **dažāda** smaguma pakāpes *HT*, nosakot biomarkieru koncentrācijas **cerebrospinālajā** šķidrumā (*CSF*) otrajā un 48. stundā pēc *HT*. Tika konstatēts, ka visaugstākā citokīna *IL-6* koncentrācija *CSF* ir otrajā stundā pēc *HT* -- no 10 līdz 23 reizēm lielāka nekā kontroles grupai. Salīdzinoši mazāka *CSF IL-6* koncentrācija bija jau pēc 48 stundām pēc traumas (*Chiaretti et al.*, 2008). Vairākiem pacientiem ar vidēji smagām un smagām *HT* un dažiem pirmās grupas pacientiem ar vieglām *HT* tika konstatēta paaugstināta seruma *IL-6* koncentrācija otrajā, trešajā un arī ceturtajā dienā pēc traumas. Viens

izskaidrojums varētu būt balstīts uz pētījumiem ar eksperimenta dzīvniekiem. Pēc smadzeņu audu bojājuma citokīni aktivē glijas šūnas, kuras producē citokīnus kā atbildes reakciju uz kairinājumu (*Barone and Kilgore, 2008*) un dzīvnieku smadzeņu audos tika novērotas neirotoksiskas vai neuroaizsargājošas mikroglijas atšķirīgās reakcijas korelācijā ar galvas traumas smagumu. Vieglu galvas traumu gadījumā, t. i., vieglu neironu bojājumu gadījumā, mikroglija izdalīja iekaisumu veicinošas ķīmiskas vielas, bet neirotrofiskās neironus reģenerējošās vielas izdalījās visu trīs smaguma pakāpju neironu bojājumu gadījumos. Otrs izskaidrojums varētu būt balstīts uz pētījumiem par cilmes šūnu lomu *HT* patofizioloģiskajos procesos. Žurkām tika pierādīta mezenhimālo cilmes šūnu (*MSC*) nozīme iekaisuma atbildes reakcijas veidošanā. Žurkām, kurām netika ievadītas *MSC*, *IL-6* koncentrācija samazinājās jau pēc pirmās diennakts, bet tām, kurām tika ievadītas *MSC*, *IL-6* koncentrācija sākumā samazinājās, bet pēc tam paaugstināta saglabājās 30 dienas pēc traumas. Tas ļāva secināt, ka *MSC* piemīt imūnās atbildes reakciju modulējošas iezīmes – pirmajās stundās pēc galvas traumas, kad *IL-6* darbojas kā iekaisumu veicinošs citokīns, *MSC* mazina tā aktivitāti, bet pēc dažām dienām, kad *IL-6* aktivitāte tiek saistīta ar revaskularizācijas veicināšanu, *TNF- α* inhibēšanu un nervu augšanas faktora stimulāciju, *MSC* veicina *IL-6* aktivitāti. Mūsu pētījumā *IL-6* koncentrācijas paaugstināšanās iepriekšminētajiem pacientiem līdz ceturtajai dienai pēc *HT* iespējams arī ir *MSC* aktivitātes rezultāts.

Pētījumos ar eksperimenta dzīvniekiem žurkām, kurām tika modelētas kontrolētas galvas traumas, netika konstatēta korelācija starp *IL-10* ekspresiju un tā atbilstošu pieaugumu smadzeņu audos un faktora pieaugumu laika vienībā perifērajā asinsritē (*Kamm et al., 2006*). Žurku mazuliem (*Gonzalez et al., 2009*) un sivēniem (*Lyng et al., 2005*) tika pierādīts, ka *IL-10* ekspresija nenobriedušos smadzeņu audos norit atšķirīgi salīdzinājumā ar nobrieduša dzīvnieka smadzeņu audu iekaisuma reakcijām. Pieaugušām žurkām

sistemātiska *IL-10* ievadīšana veicina neiroloģisku uzlabošanos *HT* dzīvniekiem un paralēli samazina iekaisumu veicinošu citokīnu izdali (*Knoblach and Faden, 1998*), dzīvnieku mazuļiem (žurkulēniem un sivēniem) sistemātiska *IL-10* papildus ievade neiroloģisku uzlabošanos neatzīmēja, atsevišķos gadījumos pat ar stāvokļa pasliktināšanos. Klīniskajos pētījumos par pacientiem ar smagu galvas traumu biomarkieru ekspresija pētīta gan *CSF*, gan serumā. *IL-1* un *IL-6* serumā un *CSF* tika konstatēti tūlīt pēc galvas traumas, citokīns *IL-10* serumā un *CSF* tika konstatēts pēc ilgākā perioda, t. i., 24 stundas pēc traumas (*Venetsanou et al., 2007*). Pētījumā par bērniem *IL-10* samazina centrālas dabas lokālu iekaisumu smadzeņu audos pēc *HT*, bet politraumas pacientiem var izraisīt perifēro imūno atbildes reakciju nomākumu, tādejādi pasliktinot kopējo politraumas rezultātu (*Morganti-Kossmann et al., 2007*). Mūsu pētījumā atsevišķiem pacientiem ar vidēji smagām *HT* un vienam otrās grupas pacientam ar smagu *HT* citokīna *IL-10* visaugstākā koncentrācija serumā tika novērota pirmajā dienā, bet ar katru nākamo dienu tika fiksēta *IL-10* koncentrācijas pakāpeniska samazināšanās. Šie dati sakrīt ar pētījumiem par smagu *HT* guvušiem pieaugušajiem, kuriem seruma *IL-10* koncentrācijas augstākā vērtība tika sasniegta 24. stundā pēc galvas traumas, seruma koncentrācijai pakāpenisku samazinoties četrus dienu laikā (*Dziurdzik et al., 2004; Hayakata et al., 2004*).

Abu grupu pacientiem ar smagām un vidēji smagām *HT* citokīna *IL-8* koncentrācija pirmajā dienā pēc traumas bija no četrām līdz 20 reizes augstāka nekā pacientiem ar vieglām *HT*. Tas sakrīt ar šveiciešu un austriešu zinātnieku grupas pētījumu, kurā pierādīts, ka augstāka *IL-8* koncentrācija asins serumā un *CSF* norāda par smagāku traumu un lielāku smadzeņu audu bojājumu (*Kossmann et al., 1997*). Amerikāņu zinātnieki (*Stein et al., 2011*) klīniskajā pētījumā par smagu *HT* guvušiem pieaugušajiem konstatēja, ka *IL-8* ir nozīmīgs prognostiskais marķieris smagu *HT* ārstēšanā un bojājuma apjoma noteikšanā, jo *IL-8* koncentrācija asins serumā un *CSF* pieauga pirms klīnisko

pazīmju – intrakraniālā spiediena pieauguma un cerebrālās hipoksijas progressa. Mūsu pētījumā abu grupu pacientiem *IL-8* uzrādīja visaugstāko savstarpējās korelācijas aktivitāti ar pārējiem paletes biomarkieriem. Šādas ciešas un statistiski ticamas seruma *IL-8* koncentrāciju korelācijas ar *IL-6*; *IL-10*, *MCP-1*, *EGF* un *INF-α* dažādās dienās pēc traumas varētu apliecināt hemokīna *IL-8* nozīmi galvas traumu patofizioloģisko procesu izpratnē un *HT* iznākuma prognozēšanā.

Mūsu pētījumā aplūkojot katra pacienta *MCP-1* koncentrāciju izmaiņas serumā, nākas secināt, ka nav nekādas saistības starp bērnu vecuma grupām un galvas traumas smagumu. Piemēram, bērnam vecumā līdz diviem gadiem ar vieglu *HT* pirmajā dienā *MCP-1* koncentrācija asins serumā var sasniegt ļoti lielus skaitļus, bet bērnam ar smagu *HT* no otrās vecuma grupas *MCP-1* koncentrācija asins serumā bija uz pusi mazāka. Tas sakrīt ar britu zinātnieku klīniskā pētījuma gala secinājumu, ka pieaugušajiem pacientiem ar smagu smadzeņu kontūziju hemokīna *MCP-1* koncentrāciju izmaiņas var liecināt par smadzeņu kontūzijas sliktu iznākumu, bet *MCP-1* koncentrācija asins serumā nemainās, ja, pacienta stāvoklim pasliktinoties, bojājuma apjoms palielinās (*Rhodes et al., 2009*).

Literatūrā ir daudz informācijas par interferona gamma (*INF-γ*) ekspresiju smadzeņu audos eksperimenta dzīvniekiem, un tiek uzsvērta *INF-γ* pozitīvā nozīme neironu diferenciācijas un neirītu augšanas stimulēšanā (*Wong et al., 2004*). Turpretī pētījumu par *INF-α* nozīmi galvas traumas bojājuma apjoma un iznākuma prognozēšanā nav. Aplūkojot mūsu pētījuma rezultātus, nākas secināt, ka *INF-α* nav būtiskas nozīmes smadzeņu deģenerācijas vai reģenerācijas procesos pēc *HT*.

Mūsu pētījumā *EGF* neuzrādīja statistiski ticamas koncentrāciju atšķirības serumā pirmās grupas pacientiem no atbilstošā vecuma kontroles grupas. Līdzīgi mūsu rezultātiem, Pitsburgas klīniskajā pētījumā ar vieglas *HT* zīdaiņu vecuma pacientiem, *EGF* neuzrādīja būtiskas, statistiski ticamas

koncentrāciju izmaiņas starp traumas pacientiem un atbilstošā vecuma kontroles grupu (Berger et al., 2009). Taču mūsu pētījumā augstas asins seruma *EGF* koncentrācijas tika uzrādītas pirmās grupas pacientiem ar vieglu *HT*, t.i., bērniem līdz viena gada vecumam. Tādējādi bija pamanāma kopīgu seruma *EGF* koncentrāciju izmaiņu tendence četrās dienās pēc traumas. Arī kontroles grupas zīdaiņa vecuma pacientiem salīdzinājumā ar pārējiem kontroles grupas bērniem tika konstatētas trīs reizes augstākas asins seruma *EGF* koncentrācijas. Statistiski apstrādātie dati par seruma *EGF* koncentrāciju izmaiņām četrās dienās pēc traumas četriem pirmās grupas pacientiem ar vieglām *HT* vecumā līdz gadam uzrādīja statistiski ticamu savstarpēju korelāciju starp pirmo un otro, trešo un ceturto dienu pēc traumas. Turpretī pacientiem ar smagu galvas traumu *EGF* koncentrācijas bija no divām līdz trīs reizēm zemākas nekā kontroles grupas pacientiem. Iegūtos datus ir grūti interpretēt, jo literatūrā nav daudz klīnisku ziņojumu par *EGF* koncentrāciju izmaiņām asins serumā dažādos periodos pēc galvas traumām. Neatkarīgas zinātnieku grupas pierādījušas *EGF* starpnieka lomu nervu šūnu proliferācijā un migrācijā pelēm un žurkām (Teramoto et al., 2003; Sun et al., 2009), norādot, ka ar vislielāko varbūtību cilvēka smadzenēm arī piemīt iedzimts potenciāls papildināt bojāto neironu populāciju endogēnās neuroģenēzes ceļā. Varam tikai hipotētiski spriest par mūsu pētījumā iegūtajiem *EGF* augstas koncentrācijas rezultātiem asins serumā bērniem līdz divu gadu vecumam ar vieglām *HT*. Iespējams, ka tieši bērniem līdz divu gadu vecumam, kad notiek īpaši aktīva smadzeņu attīstība neiroblastu diferenciācijas dēļ, *HT* gadījumā *EGF* īpaši jutīgi reaģē tieši uz vieglām *HT*. Smagu un vidēji smagu *HT* gadījumā *EGF* koncentrācijas asins serumā mainījās minimāli. Iespējams, ka smagu *HT* gadījumā šajā vecuma grupā norisinās daudz paralēlu patofizioloģisku procesu, kuru laikā *EGF* starpnieka funkcijas tiek nomāktas. Mūsu pētījumā bērniem, kas bija vecāki par diviem gadiem, tik izteiktu *EGF* ekspresiju nekonstatējām, toties iespējams, ka neironālo cilmes šūnu proliferācija un migrācija vidēji smagu un smagu galvas

traumu gadījumos notiek pietiekami aktīvi. Līdz ar to *EGF* varētu būt viens no potenciālajiem prognostiskajiem biomarkšiem bērniem ar vieglām galvas traumām līdz divu gadu vecumam.

Apoptoze

Cilvēku smadzeņu audos pēc smagām *HT* apoptotiskās šūnas vairāk ir novērojamas smadzeņu baltajā nekā pelēkajā vielā (*Smith, 1997*). Tādēļ arī mūsu pētījumā apoptotiskās glijas šūnas tika pētītas tikai smadzeņu baltajā vielā traumas un pretsitiena vietās. Aplūkojot pētījumā iekļautos pacientus, tikai dažiem pēc traumas attālinātā periodā mirušajiem pacientiem tika noteikts liels skaits apoptotisko šūnu baltajā smadzeņu vielā traumas un pretsitiena vietā. Īpašu vērību jāvelta notikuma vietā mirušo bērnu grupai, kurā bija vērojama korelācija starp bērna vecumu un apoptotisko šūnu skaita pieaugumu traumas un pretsitiena vietās. Vienīgi gadu vecajam bērnam bija izteikta atšķirība starp vidējo apoptotisko šūnu skaitu traumas un pretsitiena vietās - traumas vietā bija izteikti lielāks apoptotisko šūnu skaits nekā pretsitiena vietā. Tas norāda, ka bērniem līdz divu gadu vecumam apoptoze norit atšķirīgi, daudz aktīvāk nekā bērniem pēc divu gadu vecuma. Pētījumos par smadzeņu attīstību pierādīts, ka tad, ja līdz divu gadu vecumam centrālā nervu sistēma (*CNS*) tiek pakļauta mehāniska spēka iedarbībai, gan nekrotiskā, gan apoptotiskā *CNS* šūnu nāve notiek daudz dinamiskāk nekā bērniem, kas vecāki par 2 gadiem, un pieaugušajiem (*Paus et al., 2001; Lenroot and Giedd, 2006*). Bērniem līdz 2 gadu vecumam ļoti aktīvi norit nekrozes process pēc primārā smadzeņu bojājuma, izdalot starpšūnu telpā ļoti daudz lizosomālo fermentu, kas var ietekmēt blakus esošās šūnas, veicinot to bojāeju (*Clausen, 2004*) un/vai ieslēdzot programmētās nāves mehānismus. Pētījumos ar cilvēkiem, kuri miruši attālinātā periodā pēc smagas *HT*, novērots liels skaits apoptotisku glijas

šūnu smadzeņu baltajā vielā salīdzinājumā ar pelēko vielu, kur apoptotisko šūnu skaits samazinās pēc desmitās traumas dienas (*Smith et al.*, 2000). Tādējādi ar lielu varbūtību jāpieņem, ka glijas šūnu apoptoze smadzeņu baltajā vielā ilgstošā laika posmā ir smagas *HT* pazīme salīdzinājumā ar neironu apoptotisko nāvi smadzeņu pelēkajā vielā, deģeneratīvu izmaiņu un citu *CNS* saslimšanu gadījumos.

Tā kā apoptozes process norit no dažām stundām līdz vairākām dienām, tad svarīgi ir apzināties šo laika ierobežojumu, kurā ir iespējams pasargāt veselās nervu šūnas no būtiski bojāto šūnu ietekmes *penumbras* zonā. Mazinot iekaisumu veicinošo vielu izdali, mazinās apoptozes procesa kaskāde *penumbras* zonā, kas parasti progresē pēc smadzeņu šūnu nekrozes rezultātā izdalītiem lizosomālajiem fermentiem. Īpaši tas attiecas uz bērniem ar smagu *HT*, jo traumas izraisīta demielinizācija ir saistāma ar oligodendroglijas zudumu apoptozes ceļā (*Bell and Natale*, 2006).

SECINĀJUMI

1. Citoskeleta proteīna GFAP un diedziņu NF statistiski ticami palielināšanās smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā gan pieaugušajiem, gan bērniem, kas izdzīvo ilgāk nekā 24 stundas pēc galvas traumas, liecina par šūnas citoskeleta izteiktu momentānu adaptāciju bojājumam smadzeņu baltajā vielā pretsitiena vietā.

2. Dinamiskāka polimorfa (proliferācija, ekspresija, šūnas citoskeleta pārmaiņas) glijas šūnu reakcija, kas mainās galvas traumas gadījumā bērniem līdz divu gadu vecumam, norāda uz smadzeņu lielāku plasticitāti un adaptāciju traumas izraisītajām izmaiņām smadzeņu audos šajā vecumā.

3. Pacientiem, kas fatālas galvas traumas rezultātā miruši notikuma vietā smadzeņu baltajā vielā statistiski ticami palielinātais IL-6 un IL-10 saturošo glijas šūnu skaits pretsitiena vietā dominē pār šo citokīnu saturošo šūnu skaitu traumas vietā, kas liecina par šo citokīnu spontānu ekspresiju spēcīga kairinājuma rezultātā un par strauju tieši bojāto un apkārtējo audu adaptāciju/pretiekaisma reakcijas palielināšanos audos, kas samazinās ilgstošākā periodā, ja pacienti pārdzīvo traumu.

4. Vairumā gadījumu apoptotisko smadzeņu šūnu skaits galvas traumas vietā bērniem ir mazāks nekā pieaugušajiem, izņemot bērnus līdz divu gadu vecumam. Ar to var pamatot aktīvu smadzeņu audu reakciju (plasticitāti, reģenerāciju) bērniem agrīnā bērnības periodā. Vecāku, notikuma vietā mirušo bērnu smadzenēs novērotā korelācija starp pieaugošo ontogēnētisko vecumu un apoptotisko šūnu skaita pieaugumu traumas un pretsitiena vietās liecina par reģenerācijas mehānismu samazināšanos augošās smadzenēs.

5. Kopumā īslaicīgā izdzīvošana pēc traumas un saņemtā terapija galvas traumas gadījumā neietekmē apoptozes rādītājus traumas un pretsitiena vietās.

Tas liecina par to, ka apoptozes rādītāji atspoguļo smadzeņu patieso programētās nāves līmeni uz bojājuma/nāves brīdi.

6. Seruma *EGF* koncentrācijas samazināšanās no pirmās līdz trešajai dienai pēc galvas traumas un palielināšanās no trešās līdz ceturtajai dienai pēc traumas ir kopīga tendence bērniem līdz gada vecumam, kas liecina, ka *EGF* varētu būt informatīvs diagnostiskais biomarķieris bērniem, kas guvuši vieglu galvas traumu līdz gada vecumam.

7. Citokīna *IL-6* seruma koncentrāciju palielināšanās statistiski ticami korelēja visiem pētījumā iekļautajiem galvas traumas pacientiem starp pirmo un otro dienu pēc traumas un norāda uz *IL-6* kā potenciāli informatīvu galvas traumas smaguma diagnostisko un reģenerācijas norises biomarķieri bērniem, sākot ar 12. stundu pēc galvas traumas.

8. Mainīgās *IL-6* seruma koncentrācijas abu grupu pacientiem četrās dienās pēc galvas traumas liecina par *IL-6* polimorfajām funkcijām smadzeņu audos. *IL-6* seruma koncentrācijas samazināšanās pirmajā diennaktī liecina par reģenerācijas procesu bloķēšanu smadzeņu audos, bet straujš *IL-6* seruma koncentrācijas pieaugums trešajā ceturtajā diennaktī par *IL-6* aktīvu līdzdalību reģenerācijas procesos.

9. Galvas traumas pacientiem hemokīni *IL-8* un *MCP-1*, citokīni *IL-10* un *INF-α* neuzrāda statistiski ticamas atšķirības salīdzinājumā ar kontroles grupas pacientu datiem. Tas norāda, ka atsevišķi šie biomarķieri nesniedz informāciju par galvas traumas smagumu, apjomu un iznākuma prognozēm.

10. Hemokīna *IL-8* savstarpēji ciešās un ticamās korelāciju variācijas ar *EGF* un *IL-6* pacientiem līdz divu gadu vecumam un ar *IL-6*, *MCP-1* un *INF-α* vecākiem pacientiem jāuzlūko kā individuālas un perspektīvā – potenciāli informatīvas atsevišķu pacientu galvas traumu diagnostikā un prognozēšanā.

PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Monogrāfiju daļas – (2)

1. Bārzdiņa A., L. Lugovskojs. Galvas trauma. Grām.: *Bērnu ķirurģija*, red. A. Pētersons. Rīga: Nacionālais apgāds, 2005, 116.–125. lpp.
2. Bārzdiņa A. Smaga galvas trauma bērniem. Grām.: *Klīniskā anestezioloģija un intensīvā terapija*, red. Vanags I. un A. Sondore. Rīga: Nacionālais apgāds, 2008, 1063.–1071. lpp.

Zinātniskie raksti – (4)

1. **Barzdina A.**, M. Pilmane, A. Petersons. GFAP and NF expression in brain tissue in children and adults after fatal traumatic brain injury. *Paper on Anthropology XX*. Tartu University, 2011, pp. 51–63. Paper. Indexed in *BIOSIS, SPORTDiscus, Anthropological Index Online, EBSCO Publishing, CABI International, Index Copernicus International, Thomson Scientific Master Journal List, GALE/ CENGAGE Learning, Estonian Database Ester*.
2. **Barzdina A.**, M. Pilmane, A. Petersons. IL-6 and IL-10 expression in brain tissue in children and adults after fatal traumatic brain injury. *Acta Chirurgica Latviensis*. 2011. 11: pp. 67–73.
3. **Bārzdiņa A.**, Grīnbergs V., Pētersons A. Smagu galvas traumū ārstēšanas pieredze bērniem – divu metožu salīdzinājums. Grām.: *RSU Zinātniskie raksti*. Rīga: 2009, 128.–139. lpp.
4. **Bārzdiņa A.**, Pilmane M., Vamze J., Volksons V., Pētersons A. Apoptoze smadzeņu audos pēc fatālām galvas traumām. Grām.: *RSU Zinātniskie raksti*. Rīga, 2010, 296. –304. lpp.

Starptautiskās tēzes un prezentācijas - (8)

1. **Barzdina A.**, Tomina A., Sture-Sturina I. Two methods of treatment of severe head trauma in children. Abstract book, 2008, pp.32–37. Thesis and presentation International Meeting – Pediatric Trauma in Latvia – Statistics, Problems, Prevention. November 7 2008, Latvia.
2. **Barzdina A.**, Tomina A., Sture-Sturina I. Two methods of treatment of severe head trauma in children. Abstract book, 2008, 62: A20 p. Thesis and presentation. 4th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive Care. December 11–13, 2008, Latvia.
3. Pavare J., Grope I., Grinbergs V., Krastins J., Tomina A., **Barzdina A.**, Gardovska D. Inflammatory markers HMGB1, LBP, IL-6 and CRP for identifying sepsis in children. Abstract book, 2010: 93 p. Thesis and presentation. 5th International Baltic Congress of Anaesthesiology and Intensive Care. October, 21–23, 2010, Estonia.
4. Vamze J., **Barzdina A.**, Pilmane M., Volkson V. Apoptosis in traumatic brain tissue of human and different survival periods. Abstract book, 2010, p. 17. Thesis and presentation. The 7th International Congress of the Baltic Medico-legal Association, November 11–13, 2010, Finland.
5. **Barzdina A.**, Vamze J., Volkson V., Petersons A., Pilmane M. Brain tissue apoptosis after fatal traumatic brain injuries. Electronic poster N9. Thesis and electronic presentation. 6th World Congress on Pediatric Critical Care. March 13–16, 2011, Australia.
6. **Barzdina A.**, Pilmane M., Petersons A. GFAP and NF expression in brain tissue in children and adults after fatal traumatic brain injury. Abstract book, 2011:57. Thesis and presentation. Baltic Morphology 6th Scientific Conference. September, 22–23, 2011, Estonia. (**Award for best poster presentation**).

7. **Barzdina A.**, Pilmane M., Tretjakovs P., Petersons A. Expression of cytokines in venous blood in children younger than 7 years with head trauma of Different severity. Abstract book, 2012, 99 p. Thesis and presentation. The 12th Conference of the Baltic Association of Paediatric Surgeons, May, 17–19, 2012, Latvia.
8. Fink E., Tasker R., Beca J., Bell M.J., Clark R.S., Hutchison J., Vavilala M., Watson R.S., Weissfeld L., Kochanek P.M., Angus D.C., PANGEA Investigators (**Barzdina A.**). Prevalence of acute critical neurological disease in children: a global epidemiological assessment (PANGEA). *Critical care* 2013, Volume 17 Suppl 2, S131 Thesis and presentation. The 33rd International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine, March, 19-22, 2013, Belgium.

Vietējās tēzes un prezentācijas – (5)

1. **Bārzdīņa A.**, J. Vamze, V. Volksons, M. Pilmane. Apoptoze smadzeņu audos pēc fatālām galvas traumām. Grām.: *RSU 2010. gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes*. Rīga, 2010, 112. lpp. Tēzes un prezentācija.
2. **Bārzdīņa A.**, M. Pilmane, A. Pētersons. *GFAP* un *NF* izpausme smadzeņu audos bērniem un pieaugušajiem pēc fatālām galvas traumām. Grām: *RSU 2011. gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes*. Rīga, 2011, 121. lpp. Tēzes un prezentācija.
3. **Bārzdīņa A.**, M. Pilmane, A. Pētersons. Biomarkieru loma galvas traumas terapijā un prognozē. Nacionālais Anestezioģijas un Intensīvās terapijas kongress. Liepāja, 2011, 21. lpp. Tēzes un prezentācija.
4. **Bārzdīņa A.**, M. Pilmane, A. Pētersons. *IL-6* un *IL-10* ekspresija smadzeņu audos bērniem un pieaugušajiem pēc fatālām galvas traumām. *RSU 2012.*

gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2012, 198. lpp.
Tēzes un prezentācija.

5. **Bārzdiņa A.**, M. Pilmane, A. Pētersons, P. Tretjakovs. Citokīnu ekspresija venozajās asinīs bērniem ar dažādu smaguma pakāpju galvas traumām. RSU 2013. gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2013, 212. lpp. Tēzes un prezentācija.

PATEICĪBAS

Vislielākā pateicība manai darba vadītājai *Dr. med., Dr. habil. med.*, profesorei Mārai Pilmanei par pacietību, padomiem un ieguldīto enerģiju mana promocijas darba sagatavošanā jebkurā laikā.

Paldies *Dr. med., Dr. habil. med.*, profesoram Aigaram Pētersonam par ieguldīto darbu un enerģiju, dodot iespēju uz procesiem un lietām palūkoties no cita skatu punkta.

Pateicos konsultantiem profesoram Pēterim Tretjakovam seruma biomarķieru noteikšanā, profesoram Uldim Teibem un docentam Imantam Kalniņam par statistisko aprēķinu veikšanu.

Paldies Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas maniem Intensīvas terapijas nodaļas kolēģiem – ārstiem un māsiņām, Neuroķirurģijas nodaļas ārstiem un māsiņām par atbalstu darba tapšanā.

Pateicos Anatomijas un antropoloģijas institūta darbiniekiem par atbalstu, it īpaši Morfoloģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par palīdzību reakciju veikšanā.

Īpašs paldies dr. Jolantai Vanzei par draudzīgu atbalstu.

Pateicos Rīgas Stradiņa universitātei par iespēju studēt doktorantūras studiju programmā un par finansiālo atbalstu, kas tika sniegts no ESF līdzekļiem.

Vislielākais paldies maniem vecākiem, manai ģimenei un maniem draugiem par atbalstu, sapratni un palīdzību.