

Alise Silova

OKSIDATĪVĀ STRESA RĀDĪTĀJU
IZMAIŅAS UN KOREKCIJAS IESPĒJAS
ATSEVIŠĶU PATOĻOĢIJU GADĪJUMOS

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – bioķīmija

Darba zinātniskais vadītājs:
Dr. biol. asociētais profesors **Andrejs Šķesters**



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Promocijas darbs izstrādāts ar ESF līdzfinansēta projekta
“Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un
zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu,
vienošanās Nr. 2009/0147/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/009.

Rīga, 2015

ANOTĀCIJA

Promocijas darbs ir veltīts divām aktuālām globālām problēmām – 2. tipa cukura diabētam un mazu jonizējošā starojuma devu ilgstošai iedarbībai uz organismu. Diabēta provocēto komplikāciju veidošanā un pēcradiācijas izraisītajās sekās ir iesaistīts oksidatīvais stress, t. i., antioksidatīvā aizsardzības sistēma nespēj pietiekami novērst aktīvo skābekļa formu izraisītos lipīdu, proteīnu un nukleotīdu oksidatīvos bojājumus.

Atklājums par aktīvo skābekļa formu ietekmi uz vēža, sirds un asinsvadu, kā arī autoimūno slimību, neirodeģeneratīvo traucējumu, novecošanās u. c. procesu attīstību, kā arī daudzie epidemioloģiskie pētījumi par saslimšanas riska samazināšanos, lietojot uzturā antioksidantiem bagātus produktus, ļāva domāt par jaunu pavērsienu medicīnas zinātnē. Šūnas uz oksidatīvo stresu reaģē ar adaptācijas atbildi, aktivējot reparācijas mehānismus, vai arī, ja bojājumi nopietni – OS inducē šūnas nāvi. Tādējādi pastiprinātas aktīvo skābekļa formu veidošanās un antioksidatīvās sistēmas nepietiekamas efektivitātes dēļ veidojas oksidatīvais stress, kas vēl vairāk veicina patoloģisko procesu attīstību. Pierādīts, ka aktīvās skābekļa formas piedalās diabēta ģenēzē un vēlīnās diabēta izraisītās komplikācijās dažādās orgānu sistēmās. Arī personām, kuras saņēmušas jonizējošās radiācijas apstarojumu, radiācijas ierosinātā aktīvo skābekļa formu ģenerācija izraisa šūnu bojājumus. Jonizējošais starojums ne tikai rada tiešos struktūru bojājumus, bet turpina iedarboties uz organismu ilgtermiņā, lielākoties palielinot iespējas saslimt ar vēzi (t. sk. ar prostatas vēzi), cukura diabētu un citām slimībām, kas saistītas ar aktīvām skābekļa formām. Antioksidantu terapijas izmantošana šobrīd tiek uzskatīta par perspektīvu pieeju, lai ārstētu pacientus, kuriem oksidatīvais stress ir viens no patoģenētiskajiem faktoriem. Oksidatīvā stresa samazināšana, izmantojot antioksidantus, ir regulējošs mehānisms, lai kavētu diabēta ģenēzi un tā izraisīto tālāko komplikāciju rašanos, kā arī jonizējošā starojuma iedarbības sekas.

Lai varētu efektīvi veikt farmakoloģisko intervenci, izmantojot antioksidantus, ir svarīgi izziņāt aktīvo skābekļa formu izraisīto bojājumu molekulāros mehānismus. Lai gan ir pieejamas dažādas metodes, kā iegūt ar aktīvām skābekļa formām saistītus rādītājus, pašreiz nav standartmetodes oksidatīvā stresa izvērtēšanai. Šobrīd nav noteiktu vadlīniju par preparātiem, kuriem piemīt antioksidatīvās potences – to ievadīšanas laiku, devām, kā arī trūkst farmakokinētisko pētījumu par smagi slimiem cilvēkiem. Jonizējošā starojuma bioloģiskajā iedarbībā uz organismu vēl ir daudz neskaidrību. Klīniskos pētījumos iegūtie dati ir pretrunīgi. Atšķirības, domājams, radušās tāpēc, ka tika lietoti dažādi preparāti, atšķirīgas bija devas un ievadīšanas laiks, kā arī veids (*per os*, ārsti, pilienos vai aplikācijās, inhalāciju vai injekciju veidā), dažādas bija pētāmo cilvēku grupas un paraugu skaits. Eksperimentālajos

modeļos (pētījumos ar šūnām) parādīts, ka antioksidanti aizsargā pret radiācijas izraisītajām onkoģenētiskajām transformācijām, taču pētījumos ar cilvēkiem efekts izrādījās citāds. Prooksidantu un antioksidantu līdzsvars tiek regulēts vairāku metabolisko procesu norisē, tāpēc praktiski nav iespējams atrast universālu līdzekli, kurš varētu situāciju kardināli mainīt, atliek vien izvēlēties un kombinēt vairākus AO, kam ir dažādi iedarbības mehānismi un kas ir gan ūdenī, gan lipīdos šķīstošie.

Darba mērķi:

- 1) pētīt oksidatīvā stresa koriģēšanas iespējas organismā, lietojot:
 - a) nesteroīdo pretiekaisuma līdzekli ibuprofēnu kombinācijā ar hidrofilajiem un lipofilajiem antioksidantiem personām, kuras saņēmušas mazas jonizējošā starojuma devas, piedaloties Černobiļas AES avārijas seku likvidēšanā;
 - b) preparātus, kas satur polifenolus, 2TCD pacientiem;
- 2) noteikt oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņu atšķirības starp Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD un 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam.

Darba uzdevums bija izpētīt:

- 1) svarīgāko oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņu nozīmi Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem un izvērtēt nesteroīdā pretiekaisuma līdzekļa ibuprofēna kombinētas lietošanas efektivitāti, lietojot to kopā ar antioksidantiem E vitamīnu un Se (I pētījums), Se un koenzīmu Q₁₀ (II pētījums), uz oksidatīvā stresa līmeni;
- 2) 2TCD pacientiem oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņas un novērtēt dabiskas izcelsmes preparātu, kas satur polifenolus (*Ginkgo biloba* un zaļās tējas lapu standartizēto ekstraktu, un kombinētā preparāta *Grinvitals Cereloba® plus*), dažādu devu lietošanas efektivitāti (papildu standartterapijai) uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām (III pētījums);
- 3) oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņu atšķirības starp Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD un 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam (IV pētījums).

I pētījuma rezultāti parādīja, ka ibuprofēns kombinācijā ar antioksidantiem – E vitamīnu un Se – ietekmē oksidatīvā stresa rādītājus, pakāpeniski dinamikā sasniedzot to normalizāciju pētījuma posma beigās. Tajā pašā laikā korelatīvas saistības starp antioksidantiem un prooksidantiem liecināja par oksidatīvā stresa saglabāšanos Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā.

II pētījuma rezultāti parādīja, ka ibuprofēns kombinācijā ar antioksidantiem – KoQ₁₀ un Se –, regulējot organisma antioksidatīvās aizsardzības sistēmas antiradikālās un

antiperoksidatīvās darbības enzīmus un palielinot neenzimātisko antioksidantu daudzumu, kavēja lipīdu peroksidāciju.

III pētījuma rezultāti parādīja, ka visefektīvāk uz oksidatīvā stresa rādītājiem 2TCD pacientiem iedarbojās *Ginkgo biloba* lapu standartizētā ekstrakta lietošana lielākā devā 18 mēnešus, salīdzinot ar lietoto standartterapiju.

IV pētījuma rezultāti parādīja, ka izmaiņas antioksidatīvās sistēmas un oksidatīvā stresa rādītājos Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD, pateicoties adaptācijai oksidatīvā stresa apstākļiem, ir mazāk izteiktas nekā 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam, bet izmaiņas ir lielākas nekā Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD un kontroles grupas dalībniekiem.

Kopumā pētījumu rezultāti pierādīja oksidatīvā stresa klātbūtni gan 2TCD pacientu, gan Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā, un tā pamatoja AO intervences nepieciešamību oksidatīvā stresa koriģēšanai.

Promocijas darba rezultāti apliecina, ka antioksidantu intervences dēļ palielinājās antioksidatīvā potence, kas ļāva koriģēt oksidatīvā stresa rādītājus pacientiem ar jonizējošā starojuma iedarbības attālām sekām un 2TCD. Tādējādi dažāda ilguma un vairāku antioksidantu kombināciju lietošana kopā ar pamatterapiju ļautu ievērojami uzlabot pacientu veselību, kavējot slimības progresēšanu.

ANNOTATION

CHANGES IN OXIDATIVE STRESS PARAMETERS AND ITS CORRECTION OPPORTUNITIES IN PARTICULAR PATHOLOGIES

The doctoral thesis deals with two topical global problems – type 2 diabetes and a long-term impact of low doses of ionizing radiation on the body. Oxidative stress is one of the factors contributing to the diabetes complications and postradiation effects, i.e. when antioxidative defence system is unable to sufficiently eliminate damage of lipids, proteins and nucleotides due to reactive oxygen species.

The discovery of involvement of the reactive oxygen species (ROS) in the development of cancer, cardiovascular and autoimmune diseases, neurodegenerative disorders, aging and other processes, as well as numerous epidemiological studies in relation to reduction of disease risk using antioxidant-rich products, allowed speaking about a new turning point in medical science. The cell reaction to oxidative stress is an adaptive response of activating mechanisms of reparation, or in case of serious damage – cell death is induced. Thus, the enhanced formation of ROS and insufficient efficiency of antioxidative system lead to oxidative stress, which further contributes to the development of pathological processes. There is evidence that the ROS take part in diabetogenesis and diabetic complications in various organ systems. The body cells of people who have been exposed to ionizing radiation are also damaged by the radiation-induced ROS. Ionizing radiation creates not only direct damage to the structures, but also has a long-term effects on the body, mostly by increasing the risk of cancer, including prostate, diabetes and other diseases related to ROS. The use of antioxidant therapy is currently being considered as a prospective approach to treat patients with the disease in which one of the pathogenic factors is oxidative stress. The reduction of oxidative stress using antioxidants as regulatory mechanisms is an important factor in reducing the genesis of diabetes and development of further complications, as well as post-effect of ionizing radiation.

In order to effectively carry out pharmacological intervention using antioxidants, it is important to explore the molecular mechanisms of the damage caused by ROS. Despite the variety of methods available to measure the ROS, currently there are no standardized methods for evaluation of oxidative stress. There are no set guidelines regarding the remedies with antioxidative potency, the time of their administration, dose, and pharmacokinetic studies in critically ill people. There is still a lot of confusion regarding the biological effect of ionizing radiation on the body. The contradictory data obtained in clinical trials can be explained by the fact that there was used a variety of preparations, in different doses, time of administration

and route (*per os*, topical, drops or applications / patches, inhalation or injections), different population and the number of samples. The experimental models show that antioxidants protect against oncogenic transformation caused by radiation, which did not show the same effect in human studies. Since pro-oxidant and antioxidant balance is regulated by a number of metabolic processes, it is virtually impossible to find a universal tool, which could radically change the situation, therefore there must be chosen and combined a number of antioxidants with different modes of action, both water and lipid soluble.

Given study has the following aims:

- 1) to study the oxidative stress adjustment possibilities in the body, using:
 - a) non-steroidal anti-inflammatory drug - Ibuprofen in combination with hydrophilic and lipophilic antioxidants in persons who have received a low-dose ionizing radiation taking part in Chernobyl clean-up work;
 - b) polyphenol containing preparations in 2TD patients;
- 2) to determine the changes in oxidative stress parameter differences in the patients of Chernobyl clean-up workers with / without 2TD and 2TD who were not exposed to low-dose ionizing radiation.

The objectives of the work comprise:

- 1) the study of the importance of changes in the main oxidative stress indicators in Chernobyl clean-up workers, and evaluation of non-steroidal anti-inflammatory drug-impact of Ibuprofen use in combination with antioxidants - vitamin E and Se in 12 month period (Study I); Se and Coenzyme Q₁₀ (six month period) – on the level of oxidative stress changes (Study II);
- 2) the changes in 2TCD patients' oxidative stress indicators and to evaluate efficiency of different doses of natural polyphenols-containing preparations – *Ginkgo biloba* standardized leave extract; green tea standardized leave extract, and combination preparation *Grinvitals Cereloba*® plus as a supplement to the standard therapy in relation to changes in oxidative stress parameters (Study III);
- 3) to study the difference in oxidative stress parameter changes in CNNP clean-up workers with / without T2D and T2D patients who were not exposed to low dose ionizing radiation (Study IV).

The results of study I showed that Ibuprofen in combination with antioxidants – vitamin E and Se, in a 12-month period had reliable impact on OS performance gradually reaching their normalization at the end of the study. At the same time, the correlative relation between antioxidants and prooxidants showed preservation of oxidative stress in Chernobyl clean-up workers. Study II showed that Ibuprofen in combination with antioxidants – CoQ₁₀

and Se in six months' period regulated the body's antioxidative defence system and the activity of antiradical and antiperoxidative enzyme and increased the amount of nonenzymatic antioxidant, and hampered lipid peroxidation. Results of study III study showed that use of high doses of *Ginkgo biloba* leave standardized extract over 18 month period had the greatest effect on oxidative stress indicators in 2TD patients compared with applied standard therapy. Study IV showed that changes in the antioxidative system and oxidative stress parameters in Chernobyl clean-up workers with 2TD are less pronounced due to the adaptation to oxidative stress conditions, than in 2TD patients who were not exposed to low doses of ionizing radiation, but higher than in Chernobyl clean-up workers without 2TD and the control groups.

Overall, the study results proved the presence of oxidative stress in the body of both 2TD patients and the Chernobyl clean-up workers, which supported the necessity of antioxidants intervention to adjust its level.

The results of the doctoral thesis confirm that antioxidants intervention increased antioxidative potency, which allowed adjusting the oxidative stress indicators in case of aftereffects of exposure to ionizing radiation and 2TD. Thus, different duration and different antioxidants combination use together with the basic therapy would allow to significantly improving the health of patients by inhibiting the progression of the disease.

SATURS

Anotācija.....	2
Annotation.....	5
Darbā lietotie saīsinājumi.....	10
Ievads	12
Darba mērķis.....	15
Darba uzdevumi	15
Darba hipotēzes.....	15
Darba zinātniskā novitāte.....	16
1.LITERATŪRAS APSKATS	
1.1. Aktīvās skābekļa formas.....	17
1.2. Oksidatīvais stress.....	21
1.3. Endogēnas izcelsmes ASF palielināšanās.....	24
1.4. Antioksidatīvā aizsardzība.....	25
1.4.1. Mazmolekulārie antioksidanti.....	27
1.4.2. Lielmolekulārie antioksidanti – enzīmi un asinsplazmas olbaltumvielas	31
1.5. Oksidatīvais “uzbrukums” šūnu molekulām.....	33
1.5.1. Lipīdu oksidācija.....	33
1.5.2. Proteīnu oksidācija.....	37
1.5.3. Nukleīnskābju oksidācija.....	37
1.6. Oksidatīvais stress un cukura diabēts.....	38
1.7. Oksidatīvais stress un jonizējošais starojums	45
1.7.1. Jonizējošais starojums.....	45
1.7.2. Jonizējošā starojuma iedarbība uz organismu.....	46
1.7.3. Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji.....	48
1.8. Antioksidantu un citu preparātu pielietojums OS korigēšanai.....	51
1.8.1. Selēns.....	51
1.8.2. Ibuprofēns.....	53
1.8.3. Polifenoli.....	55
1.8.4. Dažādu preparātu ietekme uz jonizējošā starojuma seku mazināšanu organismā un prostatas vēža preventēšanai.....	59
2. MATERIĀLS UN METODES	
2.1. Materiāls.....	63
2.1.1. Ētiskie aspekti.....	63
2.1.2. I pētījuma dizains.....	63
2.1.3. II pētījuma dizains.....	65
2.1.4. III pētījuma dizains.....	66
2.1.5. IV pētījuma dizains.....	67
2.2. Metodes	
2.2.1. Lipīdu peroksidācijas rādītāju noteikšana.....	69
2.2.2. Proteīnu oksidācijas produktu noteikšana.....	71
2.2.3. Antioksidatīvās enzimatiskās aizsardzības sistēmas rādītāju noteikšana.....	72
2.2.4. Antioksidatīvā neenzimātiskās aizsardzības sistēmas rādītāju noteikšana.....	74
2.2.5. Bioķīmiskās metodes.....	76
2.2.6. Datu statistiskā apstrāde.....	80
3. REZULTĀTI	
3.1. I pētījums	

3.1.1. Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņas.....	81
3.1.2. E vitamīna daudzuma izmaiņas.....	82
3.1.3. Selēna daudzuma izmaiņas.....	83
3.1.4. TBS_MDA daudzuma izmaiņas.....	84
3.1.5. Hemiluminiscences rādītāju izmaiņas.....	85
3.1.6. Onkomarķieru daudzumu izmaiņas.....	89
3.1.7. Spīrmēna korelācijas koeficienta (r_s) izmaiņas starp oksidatīvā stresa rādītājiem	91
3.2. II pētījums	
3.2.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas.....	99
3.2.2. Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas.....	99
3.2.3. Reducētā glutathiona daudzuma izmaiņas.....	100
3.2.4. Selēna daudzuma izmaiņas.....	101
3.2.5. E vitamīna daudzuma izmaiņas.....	102
3.2.6. Albumīna daudzuma izmaiņas.....	103
3.2.7. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas.....	104
3.2.8. Biokīmisko un onkomarķieru rādītāju izmaiņas.....	104
3.2.9. Spīrmēna korelācijas koeficienta (r_s) izmaiņas starp oksidatīvā stresa rādītājiem	105
3.2.10. Spīrmēna korelācijas koeficienta (r_s) izmaiņas starp onkomarķieriem un oksidatīvā stresa rādītājiem.....	109
3.3.III pētījums	
3.3.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas.....	112
3.3.2. Katalāzes aktivitātes izmaiņas.....	113
3.3.3. Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas.....	113
3.3.4. Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņas.....	114
3.3.5. E vitamīna daudzuma izmaiņas.....	115
3.3.6. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas.....	116
3.3.7. Atšķirības rādītājos, atkarībā no selēna daudzuma plazmā	118
3.3.8. Spīrmēna korelācijas koeficientu (r_s) izmaiņas starp rādītājiem...	120
3.4. IV pētījums	
3.4.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas.....	126
3.4.2. Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas.....	126
3.4.3. Totālā antioksidantu statusa un Se daudzuma izmaiņas.....	127
3.4.4. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas.....	127
3.4.5. Proteīnu karbonilu daudzuma izmaiņas.....	129
3.4.6. Oksidatīvā stresa rādītāju savstarpējā saistība.....	129
4. DISKUSIJA	
4.1. I pētījums.....	132
4.2. II pētījums.....	136
4.3. III pētījums.....	141
4.4. IV pētījums.....	147
5. SECINĀJUMI	150
6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	152
7. IZMANTOTĀ LITERATŪRA	153
8. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU	163
9. PIELIKUMI	167

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

AO	– antioksidants
AOS	– antioksidatīvā sistēma
AES	– atomelektrostacija
AGEs	– dziļās glikēšanas galaprodukti (<i>advanced glycation endproducts</i>)
ASF	– aktīvās skābekļa formas
ATP	– adenozintrifosfāts
BTS	– brīvās taukskābes
CD	– cukura diabēts
CEA	– karcinoembriālais antigēns
COX	– ciklooksigenāze
Cu, Zn-SOD	– superoksīddismutāze
Cys	– cisteīns
d.	– dienā
EGb 761	– standartizēts <i>Ginkgo biloba</i> (<i>Ginkgo biloba</i>) lapu ekstrakts
ECs	– standartizēts zaļās tējas (<i>Camellia sinensis</i>) lapu ekstrakts
Er	– eritrocīti
FAD ⁺	– flavīnadenīdinukleotīds
FADH ₂	– reducētais flavīnadenīdinukleotīds
GB	– <i>Ginkgo biloba</i>
Glu	– glutamāts
GLUT	– glikozes transportieris
Gly	– glicīns
GPx	– glutationperoksidāze
GSH	– reducētais glutations
GSSG	– oksidētais glutations
GST	– glutation-S-transferāze
GV	– <i>Grinvital cereloba plus</i>
His	– histidīns
HNE	– 4-hidroksinonenāls
IBF	– ibuprofēns
JS	– jonizējošais starojums
KLF	– klastogēnie faktori
L	– litrs
LOX	– lipoksigenāze

LOOH	– lipīdu hidroperoksīdi
LPO	– lipīdu peroksidācija
Lys	– lizīns
MAPK	– mitogēna aktivēto proteīnkināžu signālsistēma
MDA	– malondialdehīds
mēn.	– mēnesis
Mth	– mitohondriji
N	– skaits
NAD ⁺	– nikotīnamīda adenīna dinukleotīds
NADP ⁺	– nikotīnamīda adenīna dinukleotīda fosfāts
NFκB	– nukleārais faktors kappa B
NPL	– nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi
NPTS	– nepiesātinātās taukskābes
OS	– oksidatīvais stress
PF	– polifenoli
PNTS	– polinepiesātinātās taukskābes
PK	– proteīna karbonili
PSA	– prostatas specifiskais antigēns
rpm	– apgrieziens minūtē (angl. <i>revolution per minute</i>)
Se	– selēns
SD	– standartnovirze
TNf-α	– tumora nekrozes faktors α
TAS	– totālais antioksidantu statuss
2TCD	– 2. tipa cukura diabēts
TBS_MDA	– ar tiobarbitūrskābi reaģētspējīgie savienojumi
TKC	– trikarbonskābju cikls
UV	– ultravioletie stari
VC	– C vitamīns
VE	– E vitamīns
vs.	– <i>versus</i>
ZT	– zaļā tēja

IEVADS

Mūsdienās viena no globālajām ekoloģiskām problēmām ir radioaktīvais piesārņojums, kuru rada atomelektrostacijas (AES). Katru dienu reaktoru darbības rezultātā radioaktīvie materiāli nonāk gaisā un ūdenī. Baltijas jūra pēdējo 40 gadu laikā ir kļuvusi par radioaktīvāko jūru pasaulē, un arī šis iemesls daļēji izskaidro pieaugošo saslimstību ar onkoloģiskām slimībām Latvijā. Notikušās lielās tehnogēnās avārijas AES (Černobiļas un Fukušimas), kā arī to iespējamība citās AES, radioaktīvo atkritumu un kodolieroču izplatīšanās draudi – tie ir tikai daži ļoti nopietni radiācijas fona paaugstināšanās riski, bet palielināta radioaktivitāte negatīvi ietekmē dzīvos organismus, to skaitā cilvēkus. Par vienu no globālajām veselības problēmām 2006. gada 20. decembrī ANO pirmo reizi cilvēces vēsturē atzina neinfekcijas slimību – cukura diabētu (CD). ANO norādīja, ka CD ir hroniska slimība ar augstām aprūpes un ārstēšanās izmaksām un var izraisīt komplikācijas, tāpēc tā rada nopietnus riskus ģimenēm, valstīm un visas pasaules sabiedrībai.

Atklājums par brīvo radikāļu ietekmi uz vēža, sirds un asinsvadu slimību, autoimūnas saslimšanas, neirodeģeneratīvo traucējumu, novecošanās u. c. procesu attīstību, kā arī daudzie epidemioloģiskie pētījumi par saslimšanas riska samazināšanos, lietojot uzturā ar antioksidantiem bagātus produktus, ļāva domāt par jaunu pavērsieni medicīnas zinātnē. Epidemioloģiskie pētījumi, piemēram, “Franču paradokss” un “Spāņu Vidusjūras diēta”, kā arī Somijā veiktā augsnes pastiprināta mēslošana ar selēnu (Se) saturošu minerālmēsli (tā ļāva samazināt saslimšanu ar sirds un asinsvadu slimībām un ar vēzi šajā Ziemeļvalstī), ir norādījuši uz būtiskām atšķirībām saslimstībā ar dažādām slimībām starp etniskajām grupām, kam ir citāds dzīvesveids un kas dažādi pakļautas daudzveidīgiem ārējās vides faktoriem. Brīvo radikāļu izraisītās oksidēšanās reakcijas notiek procesos, kuros ir iesaistīts skābeklis / slāpeklis un elektronu transports. Pēc nepilnīgas skābekļa / slāpekļa reducēšanās veidojas brīvo radikāļu vai neradikāļu molekulas, kuras kopumā apzīmē par aktīvajām skābekļa / slāpekļa formām (ASF). Aktīvās skābekļa formas piedalās normālos fizioloģiskos dzīvības procesos – tās regulē šūnu proliferāciju, realizē makrofāgu organismu aizsargājošo darbību –, bet pastiprināti ASF veidojas daudzu patoloģiju iedarbības un ārējās vides izmaiņu rezultātā. Evolūcijas gaitā šūnas ASF neitralizēšanai ir izveidojušas antioksidatīvo aizsardzības sistēmu (AOS), ar kuras palīdzību gan pašu brīvo radikāļu, gan arī to izraisītās oksidēšanās reakcijas tiek uzturētas nepieciešamajā normas līmenī. Oksidatīvais stress (OS) molekulārajā, šūnu un organisma līmenī veidojas, ja tiek izjaukts līdzsvars starp ASF produkciju un to neitralizēšanu. Šūnas uz OS reaģē ar adaptācijas atbildi, aktivējot reparācijas mehānismus,

savukārt, ja bojājumi ir būtiski, OS izraisa šūnu bojāeju. Tādējādi pastiprinātas ASF veidošanās un AOS nepietiekamas efektivitātes dēļ pieaug OS, kas vēl vairāk veicina patoloģisko procesu attīstību. Pierādīts, ka ASF piedalās diabēta ģenēzē un vēlīnās diabēta izraisītās komplikācijās dažādās orgānu sistēmās. Arī personām, kuras saņēmušas jonizējošās radiācijas apstarojumu, piemēram, staru terapijas veidā, ārstējot vēzi, strādājot rentgendiagnostikā, kodolenerģētikā, uzturoties kodolkatastrofu (Černobiļas, Fukušimas) zonā, ciešot no kodolieroču izmēģinājumiem vai izmantošanas (Hirosimā un Nagasaki), vai no kodolieroču radioaktīvajiem nokrišņiem, radiācijas ierosinātā ASF ģenerācija izraisa šūnu bojājumus. Radiācija rada ne tikai tiešos struktūru bojājumus, bet ietekmē organismu ilgtermiņā, lielākoties palielinot iespējas saslimt ar vēzi, t. sk. prostatas vēzi, CD un citām ar ASF saistītām slimībām. Daudzi cilvēki, kas pieredzēja atombumbas nomešanu Hirosimā un izdzīvoja kodolsprādzienā, vēlāk aizgāja bojā no radiācijas veicinātām slimībām – leukēmijas, limfomas un dažādiem ļaundabīgajiem jaunveidojumiem. Arī Latvijas iedzīvotājiem, kas piedalījās Černobiļas AES seku likvidēšanā, konstatē ļaundabīgos audzējus, starp kuriem visbiežāk – plaušu ļaundabīgos audzējus, priekšdziedzera un kuņģa jaunveidojumi šajā statistikā ieņem otro vietu. Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji sirgst arī ar hroniskām neonkoloģiskām slimībām, t. sk. ar CD. Lai varētu kavēt vai samazināt gan radiācijas ierosinātos bojājumus, gan diabēta hroniskās komplikācijas, nepieciešams izstrādāt farmakoloģisku stratēģiju. Antioksidantu terapijas izmantošana tiek uzskatīta par perspektīvu pieeju, lai ārstētu pacientus, kas sirgst ar slimībām, kuru viens no patoģenētiskajiem faktoriem ir OS. Lai gan pacienti intensīvi lieto pašreiz pieejamos antidiabētiskos līdzekļus, 50% 2. tipa cukura diabēta (2TCD) slimnieku nerasniedz labu diabēta kontroli, un 18% pastāvīgi glikozes līmenis asinīs kaut nedaudz ir paaugstināts, kas sekmē diabēta hronisko komplikāciju attīstību svarīgos orgānos. Līdz šim 2TCD un tā izsaukto komplikāciju terapijā nav atrasta vieta AO kā līdzvērtīgiem profilakses un / vai terapijas līdzekļiem. Ļoti reti ir gadījumi, ka terapijas ārstniecisko līdzekļu klāstā tiek iekļauti dabisko antioksidantu preparāti, kuri var darboties ne tikai par brīvo radikāļu neitralizētājiem un “pārķērājiem”, bet jau pašā patoloģiskā procesa iedīglī kavēt iekaisuma attīstību. Polifenoli (PF), kas ir dabiskas izcelsmes savienojumi ar zemu toksicitāti, varētu būt perspektīvi diabēta izraisīto komplikāciju ārstēšanā papildu standartterapijai, un to ārstnieciskais potenciāls cilvēkiem vēl nav izpētīts. Lai gan PF – dabiskie antioksidanti – ir plaši pārstāvēti, tomēr to lielā nozīme veselības profilaksē un uzlabošanā atklāta samērā nesen. Līdz pagājušā gadsimta deviņdesmito gadu vidum tika plaši pētīti antioksidantu vitamīni – karotinoīdi – un minerālvielas. Pētījumi par flavonoīdu un citu PF AO īpašībām un to ietekmi uz slimību profilaksi plašākā mērā sākās tikai pēc 1995. gada [Scalbert et al., 2005].

Lai varētu efektīvi veikt farmakoloģisko intervenci, izmantojot AO, ir svarīgi izzināt ASF izraisīto bojājumu molekulāros mehānismus. Kaut arī pieejamas dažādas metodes, lai mērītu ar ASF saistītus rādītājus, pašreiz nav standartmetodes OS novērtēšanai. Nosakot, kāds ir bazālais jeb fizioloģiskais ASF līmenis cilvēkam, varētu izmantot šo kritēriju patoloģiskā ASF līmeņa identifikācijai un terapijas uzsākšanai laikus. Tātad jautājums, kur un cik augstu ir šī “sarkanā līnija”, aizvien ir neatbildēts.

Jonizējošā starojuma bioloģiskajā iedarbībā uz organismu vēl ir daudz neskaidrību. Svarīgi ir noskaidrot, vai, izmantojot staru terapijā augstākas radiācijas devas, to ārstnieciskā efektivitāte būs mazāka, ja slimnieks lietojis AO pat rekomendējamās dienas devas līmenī?

Nav noteiktu vadlīniju par preparātu, kuriem piemīt AO potences, ievadīšanas laiku un devām, kā arī trūkst farmakokinētisko pētījumu par kritiski slimiem cilvēkiem. Klīniskos pētījumos iegūtie dati ir pretrunīgi, jo tika lietoti dažādi preparāti, atšķirīgas bija devas un ievadīšanas laiks, un veids (*per os*, ārīgi, pilienos vai aplikācijās, inhalāciju vai injekciju veidā), kā arī pētāmo cilvēku grupas un paraugu skaits. Eksperimentālajos modeļos šūnā parādīts, ka AO aizsargā pret radiācijas izraisītajām onkoģenētiskajām transformācijām, kas neuzrādīja tādu pašu efektu pētījumos ar cilvēkiem. Svarīgi terapiju sākt jau agrīnajā saslimšanas periodā, jo AO lietošana vairs nav vēlama, ja audu bojājumi ir neatgriezeniski. Prooksidantu un AO līdzsvars tiek regulēts vairāku metabolisko procesu norisē, un gandrīz nav iespējams atrast universālu līdzekli, kurš varētu situāciju kardināli normalizēt, tādēļ kompleksi jālieto vairākus AO ar dažādiem iedarbības mehānismiem, gan ūdenī, gan lipīdos šķīstošos.

Tā kā ir pretrunīgi dati par OS rādītāju izmaiņām organismā 2TCD pacientiem un personām, kuras saņēmušas mazas jonizējošā starojuma devas, un par AO lietošanas efektivitāti šajos gadījumos, promocijas darbā izvērtētas OS rādītāju (lipīdu un proteīnu oksidatīvo bojājumu rādītāju) izmaiņas un to koriģēšanas iespējas, lietojot AO pacientiem ar minētajām patoloģijām.

DARBA MĒRĶIS

1. Pētīt oksidatīvā stresa koriģēšanas iespējas organismā, lietojot:
 - a) nesteroīdo pretiekaisuma līdzekli ibuprofēnu kombinācijā ar hidrofilajiem un lipofilajiem antioksidantiem personām, kuras saņēmušas mazas jonizējošā starojuma devas, piedaloties Černobiļas AES avārijas seku likvidēšanā;
 - b) polifenolus saturošus preparātus 2TCD pacientiem.
2. Noteikt oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņu atšķirības starp Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD un 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam.

DARBA UZDEVUMI

1. Izvērtēt kombinētas antioksidantu – E vitamīna, selēna, KoQ₁₀ – un nesteroīdā pretiekaisuma līdzekļa ibuprofēna lietošanas efektivitāti uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā.
2. Izpētīt oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņas 2TCD pacientiem un novērtēt dabiskas izcelsmes polifenolus saturošu preparātu – *Ginkgo biloba* standartizētā lapu ekstrakta, zaļās tējas lapu standartizētā ekstrakta un kombinētā preparāta *Grinvitals Cereloba® plus* – dažādu devu (papildu standartterapijai) lietošanas efektivitāti uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām.
3. Izpētīt oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņu atšķirības starp Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD un 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam.

DARBA HIPOTĒZES

1. Kombinēta E vitamīna, selēna un nesteroīda pretiekaisuma līdzekļa ibuprofēna ilgstoša lietošana varētu samazināt oksidatīvo stresu Černobiļas AES seku likvidētājiem.
2. Koenzīma Q₁₀ pievienošana kombinētai ibuprofēna ar selēnu lietošanai varētu būt ievērojami efektīvāka ilgstoša oksidatīvā stresa regulācijā Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem.
3. Dabiskas izcelsmes antioksidantu (zaļās tējas lapu standartizētā ekstrakta, *Ginkgo biloba* standartizētā lapu ekstrakta, *Grinvitals Cereloba® plus* preparāta) dažādu devu kombinēta ilgstoša lietošana papildu standartterapijai 2TCD pacientiem spēs samazināt oksidatīvo stresu efektīvāk nekā tikai standartterapija.

4. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD ir atšķirīgas izmaiņas oksidatīvā stresa rādītājos, salīdzinot ar 2TCD pacientiem un Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD.

DARBA ZINĀTNISKĀ NOVITĀTE

1. Darba ievadā pirmo reizi parādīta dažu antioksidantu un ibuprofēna kombinācijas ietekme uz mazas jonizējošā starojuma devas izraisītā ilgstošā oksidatīvā stresa regulāciju.
2. Pirmo reizi noskaidrota polifenolus saturošo uztura bagātinātāju (*Ginkgo biloba*, zaļā tēja un preparāta *Grinvitals Cereloba® plus*) darbība oksidatīvā stresa regulācijā hroniska 2TCD slimniekiem.
3. Noskaidrotas oksidatīvā stresa intensitātes atšķirības starp Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar un bez 2TCD un salīdzinātas ar 2TCD slimniekiem, kuriem anamnēzē nav ziņu par apstarošanu ar mazas devas jonizējošo starojumu.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Aktīvās skābekļa formas

Skābeklis ir nepieciešams, lai nodrošinātu aerobo baktēriju, sēnīšu un augstāko organismu metabolismu, bet tajā pašā laikā tā metabolīti var kaitīgi ietekmēt gandrīz jebkāda veida bioloģisko molekulu, tāpēc ne velti skābekli dēvē par “divsejaino Jānusu”, uzsverot tā pretrunīgo dabu.

Brīvie radikāļi – tās ir molekulāras daļiņas, kuru ārējā elektronu orbitālē izvietojas nesapārots elektrons, kas padara radikāli ķīmiski ārkārtīgi aktīvu, jo tas cenšas atgūt sev trūkstošo elektronu, atņemot to citām molekulām un vienlaikus tās bojājot. Brīvo radikāļu izraisītās oksidēšanās reakcijas notiek procesos, kuros ir iesaistīts skābeklis / slāpeklis un elektronu transports. Pēc nepilnīgas skābekļa / slāpekļa reducēšanās veidojas brīvo radikāļu vai neradikālas dabas molekulas, kuras kopumā sauc par aktīvajām skābekļa / slāpekļa formām (ASF). ASF veidojas organismā notiekošajos fizioloģiskajos metaboliskajos procesos un vēlāk piedalās gandrīz visās organisma dzīvības norisēs – regulē šūnu proliferāciju, realizē makrofāgu īstenoto organisma aizsardzību u. c. Organismā skābekļa brīvie radikāļi veidojas nepārtraukti, un tie ir šūnas normālas vielmaiņas starpprodukti. Sevišķi daudz $O_2^{\cdot -}$ veidojas fagocitozes procesā. To veidošanās ir “pārdomāta” un gādā, lai mūsu organismu pasargātu no infekcijām. Viens no $O_2^{\cdot -}$ veidošanās ceļiem organismā ir oksihemoglobīna autooksidēšanās.

1.1. tabula

Brīvo radikāļu bioloģiskā loma

[Tirzītis, 2007]

Radikāļa nosaukums	Radikāļa struktūra	Radikāļa bioloģiskā loma
Superoksīds	$OO^{\cdot -}$	Pretmikrobu aizsardzība
Nitroksīds	$NO^{\cdot}$	Vaskulārā relaksācija
Ubihinols	$Q^{\cdot}$	Elektronu pārnese

Brīvie radikāļi veidojas endogēno un eksogēno faktoru ietekmē, un tos iedala pirmējos, otrējos un trešējos radikāļos.

Pirmējie radikāļi (organismam noderīgie, piemēram, superoksīds – $O_2^{\cdot -}$, nitroksīds – $NO^{\cdot}$, ubihinols – $Q^{\cdot}$) veidojas no molekulām vienelektrona oksidēšanās reakcijās, klātesot mainīgas valences metāliem. Pirmējos radikāļus organisms speciāli izstrādā, un tie pilda dzīvībai svarīgas funkcijas – elektronu pārnesei elpošanas ķēdē (ubihinons), aizsardzību pret

mikroorganismiem (superoksīds – $O_2^{\cdot-}$), asinsspiediena regulāciju (slāpekļa oksīds – NO). No pirmējā radikāļa – $O_2^{\cdot-}$, kā arī citu procesu, kas norit organismā, rezultātā var veidoties pietiekami aktīvi (agresīvi) molekulārie savienojumi: ūdeņraža peroksīds – H_2O_2 , hipohlorīts – $ClO^{\cdot-}$ un lipīdu hidroperoksīdi – $LO^{\cdot}$, $L^{\cdot}$, $LOO^{\cdot}$.

Otrējie radikāļi (organismā nodara bojājumus) ir radikāļi, kas veidojas no ūdeņraža peroksīda, lipoperoksīdiem un hipohlorītiem divvērtīgās dzelzs klātbūtnē, šīs radikāļus producējošās molekulas pašas veidojas no pirmējiem radikāļiem. Pie otrējiem radikāļiem pieskaita arī hidroksilradikāli un lipīdu radikāļus ($HO^{\cdot}$, $LO^{\cdot}$, $L^{\cdot}$, $LOO^{\cdot}$), kas piedalās bioloģisko membrānu un asins plazmas lipoproteīnu nepiesātināto taukskābju peroksidācijas ķēžu reakcijās. Otrējiem radikāļiem ir citotoksiska darbība un to darbības rezultātā attīstās daudzas slimības.

Trešie radikāļi (antioksidantu) ir radikāļi, kuri veidojas otrējiem radikāļiem iedarbojoties uz antioksidantu molekulām, kā arī citiem viegli oksidējamiem savienojumiem.

1.2. tabula

Nozīmīgākās aktīvā skābekļa formas, to ķīmiskās formulas un izcelsmes avots
[Halliwell et al., 2001]

Nosaukums	Formula	Avots
Superoksīds	$O_2^{\cdot-}$	Mitohondriji Ksantīnoksidāze Slāpekļa oksīda sintāze NADPH-oksidāze Adrenalīns / noradrenalīns Flavīnnukleotīdu, glikozes u. c. molekulu aerobas oksidācijas reakcijas, it īpaši – dzelzs, vara atomu klātbūtnē
Hidrogēnperoksīds	H_2O_2	Superoksīddismutāze, dažas oksidāzes
Hidroperoksīdi	ROOH	Ciklooksigenāze, lipoksigenāze, lipīdu peroksidācijas reakcijas
Hidroksilradikālis	$HO^{\cdot}$	Fentona reakcija, hipohlorskābe, UV starojuma izraisītā izdalīšanās no hidrogēnperoksīda
Nitroksīds	$NO^{\cdot}$	Slāpekļa oksīda sintāzes
Peroksinitrīts	$ONOO^{\cdot-}$	Superoksīda reakcija ar slāpekļa oksīdu
Hipohlorskābe	HOCl	Mieloperoksidāze

Radikāļu klasifikācija cilvēka organismā
[Владимиров, 1998]

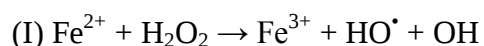
Endogēnie		Eksogēnie	
Pirmējie	Semihinoni Superoksīds Slāpekļa oksīds	Radiācija	Ūdens un biomolekulu radikāļi
Otrējie	Hidroksilradikālis Lipīdu radikāļi	Ksenobiotiķi	Toksisko vielu radikāļi
Trešējie	Antioksidantu radikāļi	UV starojums, lāzera starojums	Hromoforu molekulu radikāļi

Bez šeit minētajiem radikāļiem destruktīvo darbību šūnās un to struktūrās var realizēt arī tie radikāļi, kuri veidojas jonizējošā, ultravioletā un pat redzamās gaismas lāzera starojuma rezultātā. Radikāļus, kas veidojušies šajos procesos, nevar nosaukt par dabiskajiem. Šai grupai piederīgi arī radikāļi, kuri veidojas, organismā nokļūstot ķīmiskiem vai bioloģiskiem savienojumiem, piemēram, ksenobiotiķiem, kuri, var kļūt par toksiskiem, pateicoties tam, ka metabolismā veidojas liels daudzums brīvo radikāļu, kuri arī ir “patiesi vainīgie”.

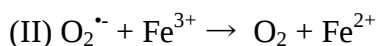
Pirmajā posmā – elektronu pārnēsē uz molekulāro skābekli – veidojas superoksīdanjona jeb superoksīda radikālis. Fizioloģiskos apstākļos galvenais tā rašanās avots ir elpošanas ķēde mitohondrijos (Mth). Elektronu noplūde notiek, cirkulējot elektroniem pa elpošanas ķēdi. Elektroni tiek pārnesti tieši uz molekulāro skābekli. Aprēķināts, ka 1–3% patērētā skābekļa pat fizioloģiskos apstākļos Mth tiek pārvērsts par superoksīdu [Boveris *et al.*, 1973]. Jāatzīmē, ka superoksīda radikāļus cilvēka organisms veido diezgan ievērojamā daudzumā. Vidēja svara cilvēks dienā patērē ap 352 L skābekļa, t. i., 14,7 molus. Ja 1% šā daudzuma pārvēršas par superoksīda radikāli, tad tas veido 0,147 molus jeb 2,35 g. Jāņem vērā, ka patoloģiju gadījumā šis daudzums var pieaugt par kārtu un sasniegt 23,5 g.

Pats par sevi superoksīda radikālis ir samērā stabils ūdens vidē, tas ātri reaģē vienīgi ar citiem radikāļiem, piemēram, ar slāpekļa oksīdu (NO[•]).

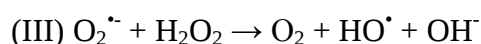
Superoksīda radikālim ir ārkārtīgi augstas reaģēšanas spējas, bet tā graužošās darbības efekts šūnā ir ierobežots, jo radikāļa negatīvais lādiņš traucē tam pilnībā šķērsot membrānu. Galvenā superoksīdanjona nozīme ir tā kalpošana par izejvielu citu ASF ģenerēšanai, starp kurām ir hidroģenperoksīds, kas veidojas no šādām redukcijām, kā arī peroksinitrīts, kas veidojas reakcijā starp slāpekļa oksīdu un superoksīdanjonu. Hidroģenperoksīdam, kas ir neradikāla ASF, raksturīga niecīga reaktivitāte, bet tas viegli spēj difundēt caur membrānu. Ja to aktivē saskarsmē ar mainīgas valences metāliem, piemēram, ar divvērtīgo dzelzi, rodas hidroksilradikālis (HO[•]). Šis process aprakstīts Fentona reakcijā:



Superoksīdanjons var piedalīties Fentona reakcijā, reducējot Fe^{3+} līdz Fe^{2+} , un tādējādi turpināt reakciju (I):

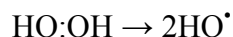


Pilnu reakciju ķēdi pieņemts saukt par Hābera – Veisa reakciju (III):



Tādējādi H_2O_2 molekulas, kas radušās vienā vietā, var pārvietoties uz citu šūnas rajonu vai pat citu šūnu un tur veidot ārkārtīgi reaktīvas hidroksilradikāļa molekulas.

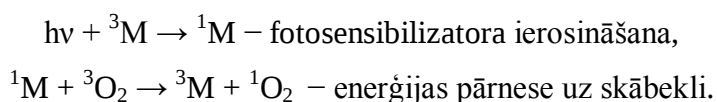
Hidroksilradikālis (HO vai $\text{HO}^\bullet$) ir pati aktīvākā no ASF. Tas difūzijas kontrolētā ātrumā ($10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) reaģē ar visām organisma molekulām un sastāvdaļām, izmainot to struktūru un funkcijas. $\text{HO}^\bullet$ organismā veidojas galvenokārt Fentona reakcijā. Hidroksilradikāļa eliminācijai organismā neeksistē fermenti. Ievērojami daudzumi $\text{HO}^\bullet$ var veidoties intensīva UV starojuma iedarbībā, tam homolītiski šķeļot ūdeņraža peroksīdu:



Hidroksilradikāļa koncentrācija organismā ir gandrīz nulle, jo tas vai nu ģenerēšanas vietā izreaģē ar apkārtesošām molekulām, vai arī ātri notiek dismutācija:



Singletais skābeklis ($^1\text{O}_2$) ir ļoti specifiska ASF. Tas, atšķirībā no parastā skābekļa, nav biradikālis, jo singletā skābekļa molekulā elektroni ir sapāroti. Ķīmiskās reakcijās tas uzvedas kā tipisks dienofils, un tāpēc tā molekulu ar pilnām tiesībām var rakstīt šādi: $\text{O}=\text{O}$. Singletais skābeklis ir parastā skābekļa elektroniski ierosinātā forma un galvenokārt tiek ģenerēts (t. sk. *in vivo*) fotoķīmiskā ceļā, izmantojot organisma krāsainos pigmentus – galvenokārt hemoglobīnu – par fotosensibilizatoriem (M):



Ņemot vērā šīs singletā skābekļa īpašības, saprotams, ka organismā visiespējamākā tā veidošanās vieta ir āda, kur ir visi ģenerēšanai nepieciešamie komponenti – gaiss, fotosensibilizators (hemoglobīns) un skābeklis. Turklāt, kā jau minēts, singletais skābeklis var veidoties arī no hipohlorskābes.

1.2. Oksidatīvais stress

Oksidatīvais stress šūnās rodas, ja līdzsvars starp prooksidantiem un antioksidantiem ir nosvērts par labu prooksidantiem, turklāt to daudzums var pieaugt, ja endogēnā AOS tos nespēj neitralizēt vai saistīt. ASF palielināšanos sekmē gan iekšējie, gan ārējie faktori: jonizējošais starojums (JS), elektromagnētiskais lauks, UV stari, smēķēšana, piesārņots gaiss, stress (galvenokārt – emocionālais), fiziska pārslodze, nepietiekama antioksidantu uzņemšana ar uzturu, ar ogļhidrātiem un taukiem pārbagāts uzturs (it sevišķi, ja organisms tos izmanto nepilnvērtīgi), antioksidantu fermentu aktivitātes samazināšanās. Līdzsvara starp prooksidantiem un antioksidantiem traucējumi var būt saistīti ar cilvēka novecošanās procesu, iedzimtu AO fermentu enzīmpātiju, hipoksiju, hiperoksiju, iekaisumu procesiem, hipotermiju u. c. faktoriem. Cilvēka organisma pretošanās spējas pret veselībai kaitīgu faktoru ietekmi un slimību rašanos pārsvarā nosaka fizioloģisko sistēmu nespecifiskās rezistences stāvoklis un adaptācijas mehānismu noturība.

Oksidatīvā stresa darbības dēļ tiek ierosināta regulatorās aizsardzības sistēmas adaptācija, kas var reaģēt šādi:

- 1) pilnībā aizsargāt pret bojājumiem;
- 2) gādāt par aizsardzību pret bojājumiem, tomēr nespēt nodrošināt aizsardzību pilnībā;
- 3) īstenot “virs aizsardzību”, proti, šūnu nodrošināt, padarīt rezistentu pret augstu oksidatīvā stresa līmeni [Halliwell *et al.*, 2001].

Adaptācijas mehānismi ir attīstījušies evolūcijas gaitā un vērsti uz homeostāzes saglabāšanu organismā. Slimību gadījumos patogēno faktoru ietekme ir tik liela, ka parastais adaptācijas mehānisms nav pietiekams un homeostāze tiek izjaukta. Šādās situācijās organisms reaģē, līdzās adaptīvajiem mehānismiem pieslēdzot kompensācijas mehānismus, kuru mērķis ir cīņa par homeostāzes atjaunošanu līdz tādām stāvoklim, kāds bija laikā, kad tā tika izjaukta. Vācu patologs *Cohnheim Julius Friedrich* (1839–1884) ir teicis: “Slimība ir dzīve nenormālos apstākļos, pateicoties kompensācijas mehānismiem.”

Adaptācijas mehānismu mobilizācijas gala rezultāts – organisma pielāgošanās jauniem iekšējās un ārējās vides apstākļiem vai slimību progresēšana nespecifiskās aizsardzības

sistēmu nespējas dēļ. Rezultāts ir atkarīgs no daudziem faktoriem un apstākļiem: kairinātāja intensitātes un iedarbības ilguma, individuālām, dzimuma un organisma sugas īpatnībām utt.

Nespecifiskās rezistences mehānismi norisinās dažādos biosistēmas strukturālajos līmeņos: submolekulārajā, molekulārajā, virsmolekulārajā, subcelulārajā, šūnu, orgānu – audu un organisma. Vadošā loma adaptācijas mehānismu realizācijā pieder neiroendokrīnajai sistēmai. Ekstremālo faktoru izraisītais augstāko veģetatīvo centru, adrenerģiskās sistēmas un hipotalāma – hipofīzes – gonādu – virsnieru sistēmas uzbudinājums rada bioķīmiska rakstura novirzes, kuras veicina organisma rezervju mobilizāciju, lai pretotos kaitīgo faktoru ietekmei.

Šos procesus pavada liels enerģijas patēriņš. Tāpēc uzskata, ka biosistēmas enerģijas līdzsvara uzturēšana ir nepieciešams adaptācijas nosacījums. Pēdējā laikā ir izpētīts, ka organisma atbildes reakcija uz ekstremālu faktoru iedarbību molekulārā līmenī raksturojas ar pastiprinātu vairāku biosubstrātu oksidēšanu. Literatūrā atrodama plaša informācija par brīvo radikāļu izraisīto oksidēšanās reakciju nozīmi adaptācijas reakciju molekulārajos mehānismos dažādu patoloģisku stāvokļu gadījumos. Ja ir intensīvs un ilgstošs OS, palielinās DNS, lipīdu un proteīnu molekulu oksidatīvie bojājumi, notiek enerģijas metabolisma traucējumi – ATP sintēze, nekovalentu mainīgas valences metālu un kalcija daudzums, kas provocē šūnu bojājumus un patoloģisko procesu attīstību. Tomēr ir daudzas slimības, par kurām nav skaidrs, vai OS uzskatāms par slimības izraisītāju un vai ir sekas primāram slimības procesam. Šūnu nopietnu bojājumu gadījumā tiek inducēts nekrozes vai apoptozes process. Nekrozes gadījumā šūna uzbriest un pārplīst, bet tās iekšējais saturs nonāk šūnas tuvākajā apkārtnē un var izsaukt OS blakus esošajos audos. Izlijušajā šūnas saturā var ietilpt antioksidanti, piemēram, katalāze (KAT) vai reducētais glutations (GSH) un prooksidanti – vara un dzelzs joni, hēma proteīni, lizosomālie enzīmi.

Par apoptozi tiek dēvēta šūnu pašnāvība, kurā šūnas labprātīgi iet bojā. Apoptotiskās šūnas nekad neizdala savu iekšējo saturu un apoptozes laikā nekad nesagrauj blakus esošās šūnas. Atšķirībā no nekrozes apoptozes procesā tiek saglabāta membrānas integritāte. Nekompensētā OS regulācijā nepieciešama antioksidatīvā terapija.

Lipīdu, DNS un proteīnu molekulu oksidatīvos bojājumus var noteikt pēc to specifiskajiem rādītājiem, kuri liecina par jebkuru oksidatīvā bojājuma pieaugumu šūnu un audu līmenī.

Lipīdu oksidatīvo bojājumu rādītāji ir malondialdehīds, ar tiobarbitūrskābi reaģēt spējīgie savienojumi, 4-hidroksinonenāls, 8-izoprostaglandīni, F₂-izoprostāni, diēnu konjugāti un akroleīns.

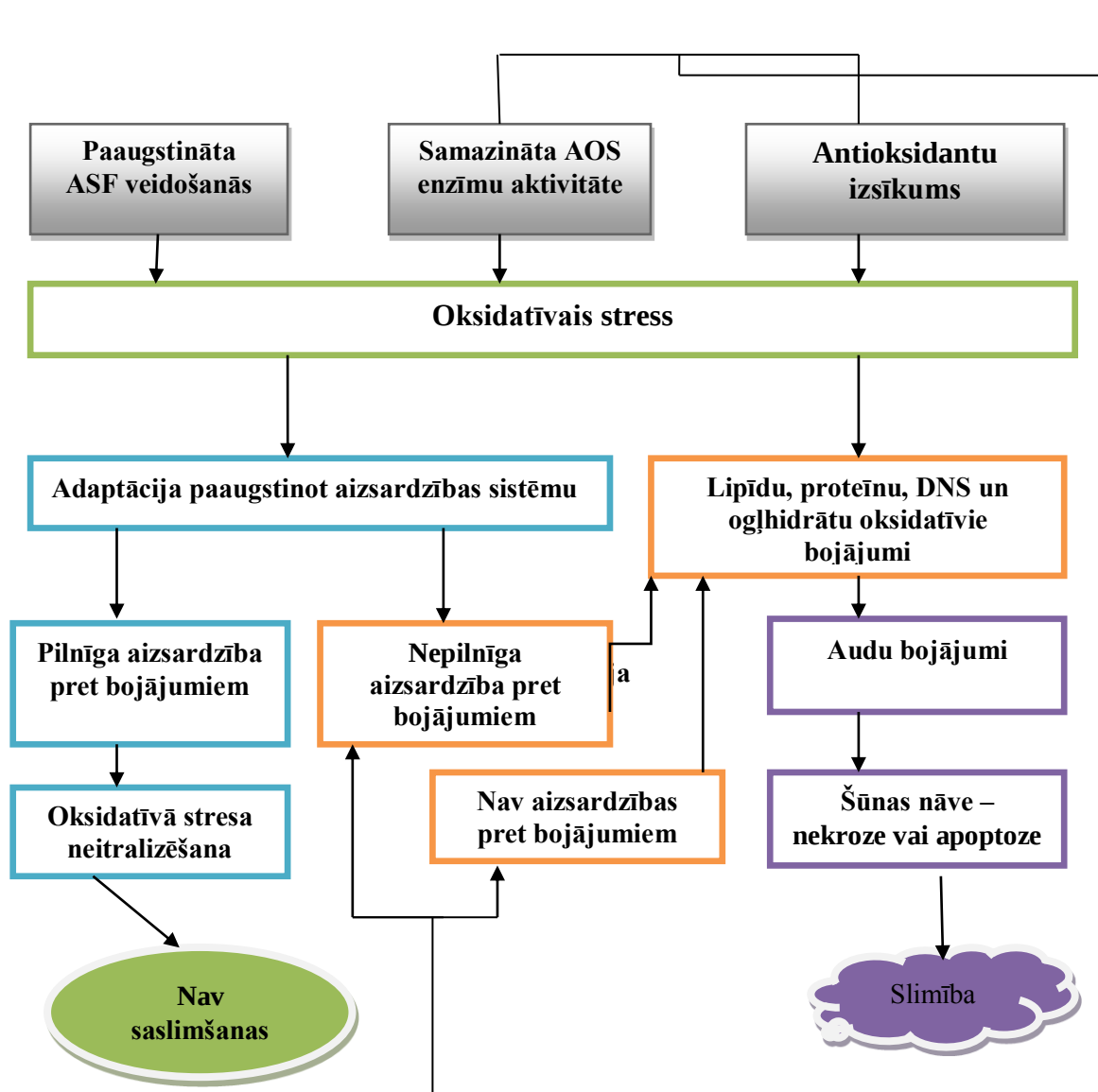
Proteīnu oksidatīvo bojājumu rādītāji: proteīnu karbonili, SH grupas, GSH / GSSG, nitrotirozīns / hlorotirozīns, aldehīdu adukti u. c. glutamīnskābes, tirozīna, lizīna, leicīna, valīna, prolīna hidroperoksīdi.

DNS oksidatīvo bojājumu rādītāji: oksidētās bāzes, nitrētās / deaminētās bāzes, aldehīdi / citi bāzu atlikumi.

Ogļhidrātu oksidācijas produkti – glikozes oksidācijas produkti.

Antioksidatīvo aizsardzību nosaka pēc AOS enzīmu aktivitātes, mazmolekulāro antioksidantu daudzuma un neenzimātisko antioksidantu proteīnu daudzuma.

Antioksidatīvais (antioksidantu) izsīkums nepierāda oksidatīvos bojājumus, tas tikai apstiprina, ka aizsardzības sistēma darbojas. Antioksidatīvās enzīmu indukcijas gadījumā netiek pierādīts oksidatīvais bojājums, bet tikai tas, vai aizsardzības sistēma ir spējīga atbildēt uz pieaugošo OS.



1.1. att. Oksidatīvā stresa rašanās un sekas slimību ierosināšanā
[adaptēts pēc Dalle-Donne et al., 2003]

1.3. Endogēnas izcelsmes ASF palielināšanās

ASF veidojas normālos fizioloģiskos apstākļos – Mth elpošanas ķēdē elektronu pārnēsē, kurā piedalās NADH dehidrogenāze, sukcinātdehidrogenāze, kā arī b, c, a_1 un a_3 citohromi un ubihinons (KoQ_{10}). Mitohondriju bojājumu gadījumos palielinās superoksīdanjonu veidošanās. ASF palielināšanos un audi bojājumus veicina arī daži citi cēloņi: išēmija – reperfūzija, karstums, traumas, atdzišana, pārpūle, toksīni, radiācija un infekcijas.

Nozīmīga loma ASF palielināšanā ir kalcija joniem. Paaugstināts kalcija līmenis starpšūnu telpā aktivē endoteliālo (eNOS) un neironu slāpekļa oksīdu sintāzi (nNOS), veidojot NO, kas savukārt ar superoksīdanjoniem var veidot peroksinitrītu. Turklāt kalcijs, aktivējot fosfolipāzi A_2 , no membrānas fosfolipīdiem atbrīvo arahidonskābi, kas nepieciešama prostaglandīnu (reakcija: ciklooksigenāze – COX) un leukotriēnu (reakcija: lipoksigenāze – LOX) sintēzei. Abās reakcijās papildus veidojas lipīdu hidroperoksīdi (LOOH). Kalcijs, aktivējot ksantīna dehidrogenāzes pārvēršanos par ksantīna oksidāzi, veicina superoksīdanjona veidošanos. Ksantīna dehidrogenāzes pāreja par oksidāzi noteiktos audos un iespējamā ksantīna oksidāzes izdalīšanās no bojātajām šūnām var būt visas sistēmas bojājuma cēlonis, jo, pieaugot hipoksantīna līmenim, iespējama enerģētiskā metabolisma sagrāve. Paaugstināts kalcija līmenis sekmē poru atvēršanos Mth membrānās un pastiprinātu kalcija iekļūšanu tajās, izraisot Mth uzbriešanu, ārējās membrānas bojājumu, citohroma c un apoptozi veicinošo faktoru izkļūšanu no Mth. Atbrīvojoties mainīgas valences metālu (Fe^{+2} , Cu^{+2}) joniem no to “glabātuvēm”, H_2O_2 pārvēršas par $HO^\bullet$, lipīdu peroksīdiem un izmaina attiecību $RO_2^\bullet / RO^\bullet$ autooksidācijas reakcijās. Hēma proteīni, kuri var izdalīties no mioglobīna, hemoglobīna un citohroma, reaģē ar peroksīdiem, ierosinot brīvo radikāļu radītos šūnu membrānu, struktūru bojājumus, un (gadījumos, ja peroksīdi ir pārākumā) izdala Fe^{+2} un hēmu, pārveidojot peroksīdus par $RO_2^\bullet$ un $RO^{\bullet\bullet}$. Lielu daudzumu ASF izdala imūnsistēmas šūnas, sevišķi gadījumos, ja aktivējas iekaisuma procesi. Nonākot kontaktā ar baktērijas virsmu, fagocīti un makrofāgi sāk intensīvi izdalīt brīvos radikāļus. Bioķīmiski šī brīvo radikāļu veidošanās notiek NADPH oksidāzes ciklā, pārnēsot elektronu uz skābekļa molekulu. Turklāt katra NADPH molekula oksidējoties atdod elektronu pārnēses ķēdē divus elektronus, un rezultātā veidojas superoksīda radikālis. Superoksīda radikāļi spējīgi kaitēt gan pašiem fagocītiem, gan citām asins šūnām, gan arī, protams, mikrobiem un svešķermeņiem, kuri izsauca makrofāgu aktivēšanos. Superoksīddismutāzes dismutācijas reakcijā superoksīds tiek pārvērsts par skābekli un ūdeņraža peroksīdu, ko fagocīti ar mieloperoksidāzes

starpniecību pārvērš hipohlorītā – ārkārtīgi agresīvā savienojumā, kas spēj lizēt baktēriju apvalkus.

Pret OS vērstos aizsardzības pasākumus nosacīti var iedalīt trīs grupās:

- 1) ASF veidošanās novēršana;
- 2) ķēdes reakciju veidošanās un attīstības inhibēšana;
- 3) bojāto vietu, šūnu komponentu reparācija.

1.4. Antioksidatīvā aizsardzība

Pasaulē labi pazīstamie peroksidācijas procesu pētnieki Barijs Halivels (*Barry Halliwell*) un Džons Gateridžs (*John M. C. Gutteridge*) apgalvo: “Antioksidants ir jebkura substance, kura, klātesot mazā koncentrācijā, ievērojami aizkavē substrāta oksidēšanu vai pasargā no tās” [*Halliwell et al.*, 2001].

Tā kā ASF veidojas fizioloģiskos apstākļos, organismā evolūcijas gaitā ir izveidojusies endogēnā antioksidatīvā aizsardzība, kura regulē ASF daudzumu organismā un nepieciešamības gadījumos tās neitralizē. Antioksidatīvā aizsardzība ietver gan mazmolekulāros, gan lielmolekulāros antioksidantus – antioksidantu enzīmus, kuri var arī savstarpēji sadarboties. Eksogēnie AO organismā iekļūst ar pārtiku vai uztura bagātinātājiem.

9. reakcija: VE reģenerācija ar VC – VE radikālis (T-O[•]) reducējas atgriezeniski līdz VE (T-OH) ar askorbīnskābi (askorbāta fizioloģiskā forma ir askorbāta monoanjons AskH⁻), atstājot aiz sevis askorbilradikāli (Ask^{•-}).
10. reakcija: VE reģenerācija ar GSH – oksidētais VE radikālis (T-O[•]) reducējas ar GSH.
11. reakcija: oksidētais GSSG un askorbilradikālis (Ask^{•-}) reducējas atpakaļ līdz GSH un askorbāta monoanjonam, AskH – attiecīgi ar dihidrolipoiskābi (DHLS), kura pati pārvēršas par α -lipoiskābi (ALS).
12. reakcija: DHLA reģenerācija no ALA, izmantojot NADPH.
13. reakcija: LOH reducējas līdz alkoholam un skābeklim ar GPx, izmantojot GSH par elektronu donoru.

LPO process.

14. reakcija: LOH var reaģēt ātri ar Fe²⁺, veidojot lipīdu alkoksilradikāli (LO[•]) vai daudz lēnāk reaģēt ar Fe³⁺, veidojot lipīdperoksilradikāli (LOO[•]).
15. reakcija: LO[•] iegūti no arahidonskābes, notiek ciklizācijas reakcijas, veidojot sešu locekļu hidroperoksīdu gredzenu.
16. reakcija: sešu locekļu hidroperoksīda gredzens pakļaujas šādām reakcijām (ieskaitot pārrāvumus) līdz 4-HNE.
17. reakcija: 4-HNE tiek pārvērsts nekaitīgā glutatiladuktā (GST, glutation-S-transferāzē).
18. reakcija: peroksilradikālis taukskābes iekšējā pozīcijā var reaģēt ciklizējoties un veidot cikliskos peroksīdus blakus oglekļa centrētam radikālim.
19. reakcija: šis radikālis var būt vai nu reducēts līdz ūdeņraža peroksīdam (reakcija nav parādīta), vai tas var iziet otru ciklizēšanu, lai veidotu biciklisku peroksīdu, kas pēc saistīšanās ar molekulāro skābekli un reducēšanas veido molekulu, kas strukturāli līdzīga endoperoksīdam.
20. reakcija: izveidojies savienojums ir starpprodukts malondialdehīda veidošanai.
- 21., 22., 23. reakcija: malondialdehīds var reaģēt ar DNS bāzēm citozīnu, adenīnu un guanīnu, veidojot attiecīgus aduktus M1C, M1A un M1G.

1.4.1. Mazmolekulārie antioksidanti

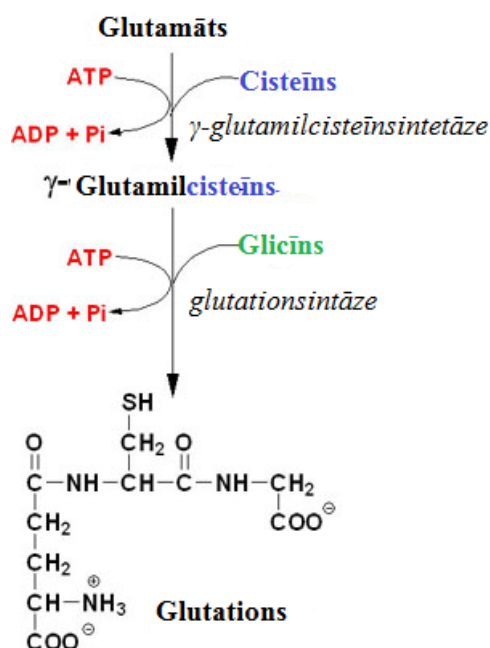
Mazmolekulārie AO vai nu producējas endogēni – GSH, urīnskābe, KoQ₁₀, α -lipoiskābe, bilirubīns u. c. – vai arī tiek uzņemti ar uzturu.

Urīnskābe – asins plazmā tās koncentrācija ir 0,2–0,4 mM. Fizioloģiska pH gadījumā tā ir jonizēta, un tās šķīdība ir daudz labāka nekā atrodoties nejonizētā formā. Modeļsistēmās, mijiedarbojoties ar HO[•] un citiem radikāļu dabas oksidētājiem, urīnskābe uzšķēļ gredzenu, veidojot virkni produktu. Pamatojoties uz šiem datiem, B. Eims (B. Ames) 1981. gadā postulēja, ka urīnskābei *in vivo* piemīt spēcīgas antioksidanta īpašības.

Glutations (GSH) ir tripeptīds – Glu-Cys-Gly – un viens no vissvarīgākajiem plazmas un arī citozola mazmolekulārajiem komponentiem. Glutaciona funkcijas organismā ir ļoti daudzveidīgas, un viena no svarīgākajām – darbība organisma antioksidatīvajā sistēmā. Glutaciona reducējošās darbības pamatā ir SH grupa, un viena no tā nozīmīgām funkcijām – piedalīšanās tokoferola reciklizācijā, kā arī hidroperoksīdu pārvēršanā spirtos. Vēl GSH tiek iesaistīts organisma detoksifikācijā – ar fermenta glutation-S-transferāzes (GST) palīdzību tas tiek konjugēts ar ksenobiotiķiem. Glutations var reaģēt tieši ar ASF – superoksīda radikāli, slāpekļa oksīdu un hidroksilradikāli vai darboties par kofaktoru AOS enzimatiskajam AO – glutationperoksidāzei (GPx).

Glutationa sintēze *de novo* notiek divos ATP atkarīgos posmos:

- 1) pirmajā posmā sintezējas γ -glutamilcisteīns no L-glutamāta un cisteīna ar enzīma γ -glutamilcisteīnsintetāzes (glutamātcisteīnligāzes) palīdzību (šis ir reakcijas ātrumu limitējošais posms GSH sintēzē);
- 2) otrajā posmā enzīms glutationsintāze pievieno glicīna atlikumu γ -glutamilcisteīna C-gala grupai.



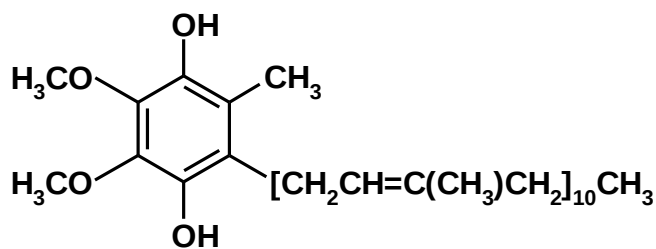
1.3. att. Glutationa sintēze *de novo*

Visvairāk GSH ir šādos augu valsts produktos: asparāgos, brokoļos, avokado un spinātos. Svaigās olās, neapstrādātā gaļā un ķiplokos ir daudz aminoskābju, kas satur sēru, un šo produktu lietošana var celt GSH līmeni organismā.

Koenzīms Q₁₀ – KoQ₁₀ eksistē trīs oksidācijas stāvokļos:

- 1) pilnīgi reducēts ubihinola formā (KoQ₁₀H₂);
- 2) semihinona formā (KoQ₁₀H•);
- 3) pilnīgi oksidēta ubihinona formā (KoQ₁₀).

Ubihinols – kofermenta Q reducētā forma – tiek uzskatīts par vienu no Mth membrānu antioksidantiem. Jāatzīmē, ka koferments Q ir lokalizēts Mth tur, kur notiek intensīva elektronu pārnese, un tāpēc ir liela iespēja, ka notiks blakus reakcijas, kuras var novest pie ASF ģenerēšanas.

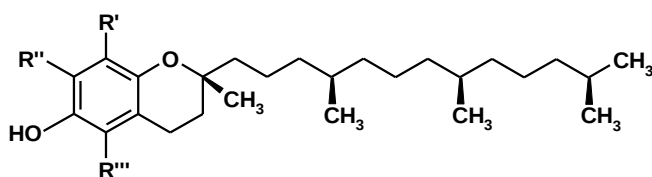


1.4. att. **Ubihinols**

Ubihinols ir arī zema blīvuma lipoproteīnu sastāvā. Tur tā gan ir daudz mazāk nekā tokoferola, un arī ubihinola reakcijas ātrums ar peroksiradikāļiem ir vien apmēram 1/10 no tokoferola reakcijas ātruma. Šķiet, ka galvenā ubihinola funkcija šeit ir reciklizēt tokoferolu.

E vitamīns. Galvenie lipofilie antioksidanti ir tokoferoli, bet šai AO grupai pieskaita arī ubihinolu un karotenoīdus, kā arī bilirubīnu, dihidrolipoiskābi un dažus citus lipīdus (taukos) šķīstošus savienojumus, kuri ir spējīgi pietiekami efektīvi reaģēt ar radikāļiem.

Tokoferoli ir vairāki savienojumi, kas pēc savas struktūras veidoti ļoti līdzīgi.



1.5. att. **Tokoferola struktūrformula**

Atkarībā no metilgrupu skaita un novietojuma hromāna gredzenā tokoferoli ir:

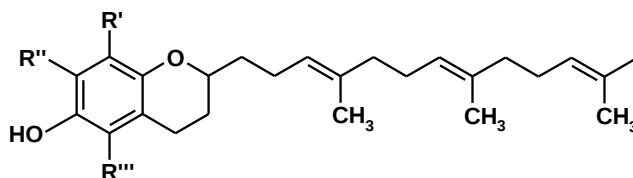
α -tokoferols $R'=R''=R'''=CH_3$

β -tokoferols $R'=R'''=CH_3$ $R''=H$

γ -tokoferols $R'=R''=CH_3$ $R'''=H$

δ -tokoferols $R'=CH_3$ $R''=R'''=H$

Tokoferoliem ļoti tuvi pēc struktūras ir tokotrienoli.

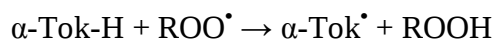


1.6. att. **Tokotrienolu struktūrformula**

Farmaceutiskā rūpniecība ražo α - tokoferola acetātu un sukcinātu, kuros HO grupa ir acilēta ar etiķskābi vai dzintarskābi.

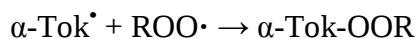
Bioloģiski visizplatītākais un nozīmīgākais ir RRR- α - tokoferols. Sintētiskais preparāts ir all-rac- α - tokoferols, kurā ir tikai 12,5% bioloģiski aktīvā RRR- α - tokoferola. Pārējais saturs – citi izomēri, kuri ir bioloģiski mazāk aktīvi.

Tokoferolu antioksidantā darbība pamatojas uz peroksiradikāļu inaktivāciju:

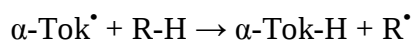


Šī reakcija ir daudz ātrāka ($k=10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) par ķēdes turpināšanas (vai citas līdzīgas) reakcijas ātrumu ($k = \sim 10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Turklāt tokoferoli efektīvi inaktivē arī singlēto skābekli. Biomembrānās tokoferols ir ar lipofilo sānu ķēdi “noenkurots” lipīdu slānī, bet hromāna gredzens – tā virspusē. Līdz ar to reaktīvā HO grupa ir orientēta pret hidrofilo citozolu vai starpšūnu telpu. Biomembrānā tokoferola attiecība pret fosfolipīdiem nav liela. Tā Mth membrānās ir aptuveni viena molekula tokoferola pret 2100 molekulām lipīda.

Reakcijās izveidojies tokoferola radikālis (tokoferiloksiradikālis) ir spējīgs inaktivēt vēl vienu peroksiradikāli:



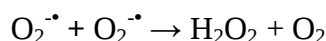
Bet tokoferiloksiradikālis ir pietiekami reaģētspējīgs un var reaģēt ar tuvumā lokalizēto lipīdu, atraujot H no taukskābes (pārsvarā no polinepiesātinātās) un ģenerēt jaunu ķēdes posmu:



Šādā gadījumā parādās tā sauktais prooksidatīvais efekts, jo tokoferiloksiradikālis darbojas par peroksidācijas veicinātāju. Vislielākā tokoferolu koncentrācija ir šādos pārtikas produktos: augu eļļā, sevišķi sojas eļļā. Bet tokotrienolu visvairāk ir palmu eļļā. Ar tokoferoliem bagāti ir arī rieksti [Tirzītis, 2007].

1.4.2. Lielmolekulārie antioksidanti – enzīmi un asins plazmas olbaltumvielas

Superoksīddismutāzes (SOD). Superoksīddismutāze ar ievērojamu ātrumu ($k = 1,6 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) katalizē reakciju:



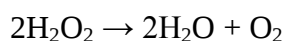
Tā kā superoksīdanjons tiek uzskatīts par galveno “vaininieku” ASF veidošanā un OS ģenēzē, tad saprotama SOD nozīme fermentatīvajā antioksidatīvajā sistēmā. Dzīvajos organismos ir vairākas SOD formas, kuras cita no citas atšķiras ar metālu joniem aktīvajā centrā.

Vara – cinka SOD (Cu, Zn-SOD) ir visizplatītākā superoksīddismutāze, un tā atrodas gandrīz visās eikariotu šūnās. Tā ir zilzaļā krāsā, ļoti stabila un specifiski aktīva tikai attiecībā uz superoksīdu. Dzīvnieku organismos Cu, Zn-SOD ir lokalizēta galvenokārt citozolā.

Mangāna SOD (Mn-SOD) ir oranžsarkanīgā (lašu) krāsā un plaši sastopama baktērijās, augos un dzīvniekos. Dzīvnieku organismos tā galvenokārt ir lokalizēta Mth, un šis fakts tiek uzskatīts par vienu no pierādījumiem dzīvnieku šūnu Mth izcelsmei no mikroorganismiem. Zīdītājos Mn-SOD superoksīdanjona dismutēšanas efektivitāte ir apmēram 1/10 no Cu, Zn-SOD aktivitātes.

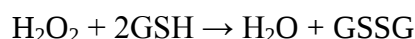
Dzelzs SOD (Fe-SOD) ir atrodama tikai baktērijās, aļģēs un augstākajos augos.

Katalāze. SOD darbības rezultātā veidoto ūdeņraža peroksīdu tālāk sadala KAT:



Katalāzi satur visas aerobās šūnas. Tās aktīvajā centrā ir dzelzs (Fe^{3+}) joni. Dzīvnieku organismā lokalizētai KAT piemīt arī peroksidāzes aktivitāte, piemēram, tā katalizē metilspirta un etilspirta oksidēšanu līdz attiecīgiem aldehīdiem. Dzīvnieku šūnās KAT ir lokalizēta speciālos iekššūnu veidojumos – peroksisomās.

Glutationperoksidāze sadala H_2O_2 , izmantojot par substrātu GSH:



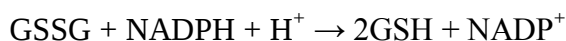
Glutationperoksidāze ir dzīvnieku, augstāko augu un daudzu aerobo mikroorganismu šūnās. Glutationperoksidāze katalizē arī taukskābju hidroperoksīdu sadalīšanu:



Šādā veidā pietiekami agresīvie hidroperoksīdi tiek pārvērsti spirtos. Glutationperoksidāze neiedarbojas uz esterificētiem taukskābju peroksīdiem biomembrānās vai lipoproteīnos pirms tie nav hidrolizēti ar lipāzēm.

Glutationperoksidāze satur **selēnu** (Se), kas fermenta aktīvajā centrā ir aminoskābē selenocisteīnā – $\text{HOOC-CH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-SeH}$.

Glutationreduktāze. GPx darbībā galvenais ūdeņraža donors ir GSH, kas no reducētās formas (GSH) pārvēršas attiecīgajā disulfīdā – oksidētajā glutatonā (GSSG). Glutationreduktāze, savukārt izmantojot NADPH, darbojas par GSSG reducētāju:



Šādā veidā normālā situācijā šūnās tiek uzturēta augsta GSH / GSSG attiecība. Reducēšanai vajadzīgo NADPH šūna iegūst no pentožu cikla darbības.

Vēl šūnas antioksidatīvajai sistēmai ir jāpieskaita virkne citu lielmolekulāro savienojumu, piemēram, tioredoksīns – polipeptīds, kurš katalizē reakciju:

- $\text{proteīns-(S}_2\text{)} + \text{tioredoksīns-(SH)}_2 \rightarrow \text{proteīns-(SH)}_2 + \text{tioredoksīns-(S}_2\text{)}$;
- metionīnsulfoksīdreduktāze, kura reducē proteīnos oksidētos metionīnus S(=O)-CH_3 par -S-CH_3 .

Asins plazma apņem asins formelementus (eritrocītus, neitrofilus, dabiskās galējājšūnas u. c.), kuros notiek intensīvas oksidēšanas reakcijas, tāpēc saprotams, ka plazmā ir jābūt arī vielām ar antioksidatīvām spējām. Galvenais plazmas komponents ir **albumīns** (ALB). Tas saista hēmu un vara jonus. Lai gan albumīns satur tikai vienu SH– grupu, ņemot vērā tā lielo koncentrāciju asins plazmā (~ 0,5 mM), tā ir ievērojama antioksidatīvās sistēmas sastāvdaļa. Albumīnam piemīt spēja ātri reaģēt ar ONOOH un HOCl, tos inaktivējot.

Haptoglobīni saista hemoglobīnu, bet **hemopeksīns** – hēmu, un nogādā tos aknās noārdīšanai. Šādā veidā abi savienojumi pasargā endotēliju, kā arī dažādas funkcijas pildošos lipoproteīnus, no peroksidēšanas, jo neļauj atbrīvoties Fe^{2+} (nokļūt šūnās un starpšūnu telpā neekranizētiem Fe^{2+} joniem) [Tirzītis, 2007].

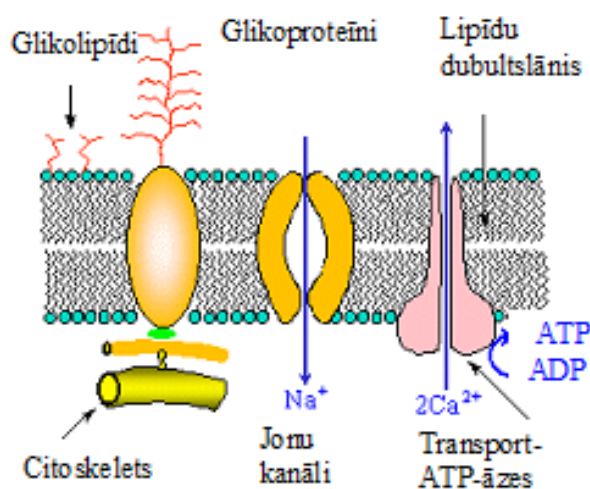
1.5. Oksidatīvais “uzbrukums” šūnu molekulām

1.5.1. Lipīdu oksidācija

Ir vispāratzīts, ka LPO ir šūnu bojājumu mehānisms, un to lieto par OS indikatoru šūnās un audos.

In vitro pētījumos, kā modeļsistēmas izmantojot eritrocītus (Er), Mth, liposomas, šūnu membrānas un citus objektus, izdevās noskaidrot, ka pastāv četri dažādi procesi, kuros tiek bojāts šūnu membrānu veselums: lipīdu peroksidācija; membrānu fosfolipāžu darbība; osmoze; polielektrolītu, ieskaitot dažus peptīdus un olbaltumvielas, adsorbēšana uz lipīdu slāņa šūnas membrānām.

No šūnas patoloģijas viedokļa smagākās sekas izraisa šūnu membrānas lipīdu slāņa bojājumi, jo lipīdu slānis šūnas membrānā veic barjeras un struktūras (matrices) funkcijas. Membrānas lipīdu slānis šūnā veido savdabīgu šķidru fāzi. Uz robežas ūdens – lipīdu fāze un lipīdu fāzes iekšienē lokalizēti vai vienkārši “peld” daudzi enzīmi, bioķīmisko reakciju substrāti, šūnu proteīnu receptori, glikolipīdi un glikolipoproteīdi, veidojot glikokaliksu.



1.7. att. Glikokalikss

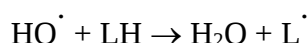
Daudzās šūnās līdz pat 80% proteīnu inkorporēti membrānās vai saistīti ar membrānu virsmu. Var runāt par to, ka lipīdu slānis veido “nesošo konstrukciju” jeb matrici visiem šūnas lipoproteīdiem, glikoproteīdiem un glikolipīdu komponentiem membrānās. No membrānu slāņa daudzajām īpašībām – plūstamības, virsmas lādiņa, polaritātes – ir atkarīga membrānu receptoru un enzīmu darbība.

Glikokalikss ir piederīgs ārējai šūnas membrānai. Tas realizē virkni funkciju, to skaitā – šūnu ārējās virsmas īpašības, šūnu spējas fagocitēt un saistīties (adhēzēt) ar citām šūnām.

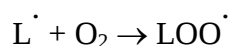
Eritrocītu glikokaliks pasargā šūnas no aglutinācijas. Glikokaliksa un citi bojājumi šūnās rada šūnas imunitātes traucējumus.

Lipīdu peroksidācijai ir vairāki secīgi posmi: iniciācijas, attīstības (turpināšanās), sazarošanās un ķēžu pārrāvums.

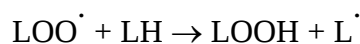
Iniciācijas posms. Hidroksilradikālis, kas ir neliela, neuzlādēta daļiņa, spēj izkļūt caur hidrofobo lipīdu slāni un stāties ķīmiskā reakcijā ar polinepiesātinātajām taukskābēm (LH), kuras ietilpst bioloģisko membrānu un asins plazmas lipoproteīnos. Reakcijas rezultātā membrānu lipīdu slānī veidojas lipīdu radikālis ($L^{\bullet}$):



Lipīdu radikālis tālāk reaģē ar vidē sastopamo molekulāro skābekli, veidojot jaunu brīvo radikāli – lipīdu peroksilradikāli ($LOO^{\bullet}$):

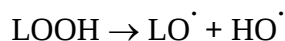


Attīstības (turpināšanās) posms. Radikālis $LOO^{\bullet}$ “uzbrūk” blakus esošo molekulu fosfolipīdiem, veidojot lipīdu hidroperoksīdu ($LOOH$) un jaunu lipīdu radikāli ($L^{\bullet}$):

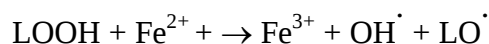


Abu pēdējo reakciju mija ir LPO ķēžu reakcija.

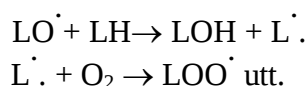
$LOOH$ spontāni var sadalīties, veidojot lipīdu alkoksiradikāli un bīstamo hidroksilradikāli:



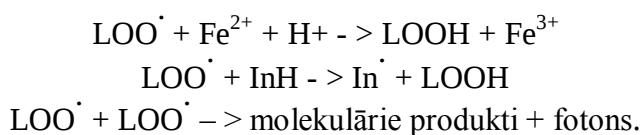
Sazarošanās posms. $LOOH$, savienojoties ar dzelzs joniem, veicina ķēžu sazarošanos:



Lipīdu alkoksilradikālis ($LO^{\bullet}$) iniciē jaunas lipīdu oksidācijas ķēdes:



Ķēžu reakciju pārrāvums. Ķēžu reakcijas var tikt pārtrauktas, savstarpēji reaģējot radikāļiem, radikāļiem reaģējot ar antioksidantiem – inhibitoriem (In) vai mainīgas valences metāliem:



Pēdējās reakcijas gaitā, līdz ar ķīmiskajām izmaiņām, attīstās arī fizikālās, piemēram, fotonu ģenerēšana, kas rada parādību, ko pieņemts saukt par “spīdēšanu” jeb hemiluminescenci (HL). Hemiluminescence tiek plaši izmantota daudzu reakciju kvantitatīvajās analīzēs, piemēram, imunoloģijā.

Daļa $\text{LOO}^\bullet$ un $\text{LO}^\bullet$ radikāļu var iesaistīties ciklizācijas, fragmentācijas un citās reakcijās, kuru rezultātā mainās molekulu struktūras, radot alkānus, alkēnus, alkoholus, aldehīdus, ketonus, epoksīdus un Šiffa bāzes. Šie savienojumi ir relatīvi stabili un var sasniegt attālākas šūnu daļas, tās neatgriezeniski bojājot.

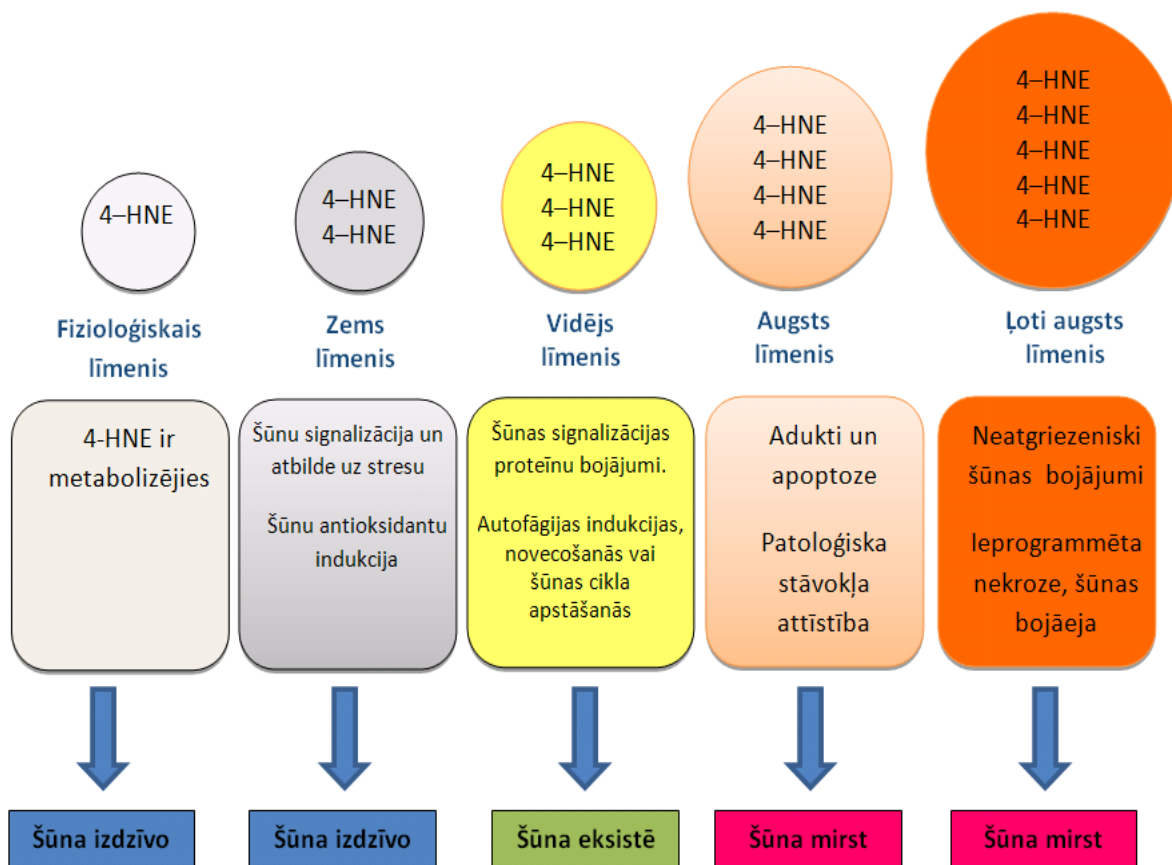
LPO galvenie gala produkti ir citotoksiskie α , β aldehīdi – malondialdehīds (MDA), 4-hidroksinonenāls (4-HNE), akroleīns un izoprostāni.

Malondialdehīds veidojas, galvenokārt peroksidācijas procesā no nepiesātinātām taukskābēm (NPTS), kurām ir vairāk par divām dubultsaitēm un enzimatiski – eikozanoīdu metabolismā.

Atkarībā no pH MDA eksistē dažādās formās. Normālos fizioloģiskos apstākļos MDA eksistē kā enolāta anjons ar zemu reaktivitāti pret vairumu aminogrupu. Ja ir zemākas pH vērtības, tā reaktivitāte pieaug. Normālos fizioloģiskos apstākļos proteīni ar brīvām aminogrupām, piemēram lizīns, tiek pakļauti MDA “uzbrukumiem”, veidojot intra- un starpmolekulārās šķērssaites. Malondialdehīds reaģē ar DNS bāzēm, galvenokārt ar guanīnu, un izraisa mutagēnus bojājumus. Malondialdehīds tiek eliminēts ar aldehīddehidrogenāzi, to oksidējot par malonskābes semialdehīdu, kurš tālāk dekarboksilējas līdz acetaldehīdam. Malondialdehīds tiek izmantots kā LPO rādītājs, pārsvarā lietojot tiobarbitūrskābes testu “brīva” MDA noteikšanai [Halliwell, 2001].

Hidroksinonenāls veidojas ω -6 taukskābju – arahidonskābes, linolskābes – peroksidācijas rezultātā un ir daudz toksiskāks nekā MDA. Reaģējot ar nukleīnskābju guanīna bāzēm, tas rāda genotoksiskas īpašības; reaģējot ar membrānu proteīniem (Na^+ / K^+ -ATPāzes un Ca^{2+} jona kanālu), tiek izjaukts šūnas membrānas potenciāls un jonu homeostāze, kas var pasliktināt metabolisko enzīmu darbību Krebsa ciklā. 4-hidroksinonenāls inaktivē NF κ B.

Apmēram 1–8% izveidojušos 4-HNE modificē olbaltumvielas. 4-hidroksinonenāls veido aduktus ar Cys, His, un Lys, radot proteīnkarbonilus. 4-hidroksinonenāls ir LPO / OS rādītājs *in vivo* un piedalās šūnas fizioloģiskās signālsistēmas integrācijā un modulēšanā. Modulējot dažādu gēnu ekspresiju, tas var ietekmēt šūnu funkcijas – augšanu, diferenciāciju un apoptozi.



1.8. att. 4-hidroksinonenāla loma šūnas metabolismā

4-HNE veicina šūnu dzīvildzi vai izraisa šūnu bojāeju. Atkarībā no šūnas tipa, bojājuma / reparācijas iespējām un šūnu vielmaiņas stāvokļa, 4-HNE var veicināt šūnu izdzīvošanu vai izraisīt to bojāeju. 4-HNE fizioloģiskos apstākļos fermentatīvi metabolizējas. Ja 4-HNE daudzuma līmenis ir zems, tas darbojas kā signālmolekula, veicinot gēnu ekspresiju, un uzlabo šūnu antioksidantu kapacitāti, un izraisa adaptīvu reakciju; Ja ir vidējs līmenis – organelu un olbaltumvielu bojājumi rada autofāģijas indukciju, novecošanos vai šūnas cikla apstāšanos; augsts vai ļoti augsts līmenis veicina attiecīgi aduktu veidošanos un apoptozi vai nekrozi.

[adaptēts Ayala *et al.*, 2014]

Fizioloģiskās koncentrācijās 4-HNE var aktivēt stresa atkarīgos mehānismus, piemēram, mitogēnaktivēto proteīnkināžu (MAPK) signālkaskādi, detoksificēšanās mehānismus (II fāzes enzīmi) un atbildes reakcijas uz iekaisumiem, tādējādi veicinot šūnas aizsardzību no citotoksiskā stresa [Blazovics, 2007; Poli *et al.*, 2008]. Eksperimentāli tika parādīts, ka 4-HNE zemās devās, aktivējot transkripcijas faktoru, inducē tioredoksīnreduktāzes ekspresiju un sekojoši adaptīvo atbildi gaidāmajam OS PC12 šūnu līnijā [Chen, 2005].

Poli et.al. norāda, ka 4-HNE tādas mērķmolekulas kā enzīmi (oksireduktāzes, transferāzes, hidrolāzes, liāzes un izomerāzes), membrānu proteīni (receptori, jonu kanāli, transportieri) un citoskeleta proteīni inhibē vai inaktivē [*Poli et al.*, 2008]. 4-hidroksinonenāls, modificējot tioredoksīnu-1, “apdraud” tā antioksidatīvās funkcijas un tādējādi veicina ASF palielināšanos [*Go et al.*, 2007]. Viena no 4-HNE ierosinātām šūnu disfunkcijām ir saistīta ar proteīnu metabolisma samazināšanos, kas rodas HNE šķērssaišu proteīnu akumulēšanās un turpmākās proteasomālā kompleksa aktivitātes samazināšanās rezultātā [*Okada et al.*, 1999; *Grune et al.*, 2003; *Jung et al.*, 2009].

4-hidroksinonenāls kā šūnai kaitīga viela, tiek izvadīts dažādos veidos. Kā brīvs aldehīds tas tiek reducēts ar aldozes reduktāzi līdz alkoholam vai ar acetaldehīddehidrogenāzi – līdz karboksilskābei. Būtiska loma HNE detoksifikācijā ir GSH, ar kuru tiek veidoti konjugāti – vai nu neenzimātiski vai enzimatiski ar GST palīdzību. Tālāk konjugāti tiek izvadīti ar urīnu merkapturskābes veidā [*Ritner et al.*, 1999; *Halliwell et al.*, 2001; *Poli et al.*, 2008].

1.5.2. Proteīnu oksidācija

Proteīnu oksidatīvā modifikācija ir iekļauta vairākas reakcijās, kuras atkarīgas no aminoskābju tipa: sēru saturoši atlikumi cisteīnā un metionīnā viegli oksidējas līdz disulfīdiem vai sulfoksīdiem, bāziskās aminoskābes – arginīns un lizīns – oksidējas līdz aldehīdiem, aromātiskie gredzeni aminoskābēs var oksidēties vai nitrēties, alifātiskais oglekļa atoms var būt oksidēts līdz alkoholam. Turklāt bez ASF tiešā uzbrukuma, proteīni var būt oksidatīvi modificēti ar LPO produktiem vai ogļhidrātiem un aldehīdiem kā glioksāls un metilglioksāls, veidojot dziļās glikēšanas galaproduktus [*Münch et al.*, 1997].

Proteīnu reparācijas mehānisms notiekšādi: cisteīna tiola grupām atjaunojoties no disulfīdiem, piemēram, ar tioredoksīnu; metionīnam atjaunojoties no sulfoksīda ar metionīna sulfoksīda reduktāzes līdzdalību [*Stadtman*, 2004]. Oksidētie proteīni tiek aizvākti proteolīzē caur proteasomu kompleksu.

1.5.3. Nukleīnskābju oksidācija

DNS bojājumiem ir galvenā loma dažādos patofizioloģiskajos stāvokļos, piemēram, kancerogēnēzē, novecošanās procesā, iekaisumos, diabēta un neurodeģeneratīvās slimības gadījumā.

Oksidatīvais stress un šūnu procesi, piemēram, lipīdu peroksidācija un glikēšana, inducē ļoti reaktīvu endogēno aldehīdu veidošanos, kas reaģē tieši ar DNS, veidojot aldehīdu atvasinātos DNS produktus, un tādējādi izraisa DNS bojājumus. Apstākļos, kas veicina nepārtrauktu aldehīdu – atvasināto DNS produktu – veidošanos un akumulāciju, veidojas neparēti DNS bojājumi, izraisot šūnas homeostāzes regulēšanās traucējumus un slimību fenotipa rašanos. Endogēni veidojas ļoti reaktīvi aldehīdi – 4-HNE, MDA, akroleīns, krotonaldehīds un metilglioksāls. Šo aldehīdu palielināta koncentrācija, sevišķi stresa apstākļos, spēj mainīt DNS bāzes un izraisīt mutagēnu un kancerogēnu efektu [Voulgaridou *et al.*, 2011].

1.6. Oksidatīvais stress un cukura diabēts

Cukura diabēts ir apkārtējās vides un ģenētisku faktoru noteikta hroniska slimība, kuras pamatpazīme ir paaugstināts glikozes līmenis asinīs. Cukura diabēta gadījumā aizkuņģa dziedzeris β šūnas neražo insulīnu pietiekošā daudzumā (1. tipa diabēts) vai organisms nespēj insulīnu efektīvi izmantot (2. tipa diabēts). 1. tipa diabēts sastopams 10–15% gadījumos, parasti ar to saslimst bērni un jauni cilvēki. 2. tips sastopams 85–90% CD gadījumu, parasti slimību konstatē pacientiem pēc 40 gadiem. Pēc Pasaules Veselības organizācijas datiem zināms, ka pasaulē 347 miljoni cilvēku slimo ar CD, un tiek prognozēts, ka 2030. gadā pasaulē ar 2TCD sirgs aptuveni 366 miljoni cilvēku [Fonseca *et al.*, 2010].

Agrīnā stadijā 2TCD pacientiem galvenokārt raksturīga perifērālā insulīnrezistence, un tajā pašā laikā aizkuņģa dziedzeris salīdzinājumā ar β šūnas vēl producē insulīnu, tomēr nepietiekamas insulīnrezistences kompensācijas dēļ zūd tolerance pret glikozi. Slimībai progresējot, vairumam slimnieku ar laiku izveidojas β šūnu disfunkcija vai tās iet bojā, radot nopietnus traucējumus insulīna sekrēcijā. No β šūnu destrukcijas pakāpes ir atkarīga glikozes līmeņa paaugstināšanās un insulīna līmeņa pazemināšanās.

Vairumā pētījumu pierādīts, ka 2TCD gadījumā – gan dzīvnieku modeļos, gan pacientiem – aizkuņģa dziedzeris salīdzinājumā ar β šūnās pieaug OS. Mehānisms, kas atbild par OS palielināšanos β šūnās, vēl tiek izziņots.

Pētījums parādīja, ka ar 2TCD sirgstošo pelu un žurku aizkuņģa dziedzeris salīdzinājumā ar β šūnās ievērojami palielinājās enzīma, kurš producē superoksīda radikāļus, NADPH oksidāzes komponenti – gp91^{phox} un p22^{phox}, un vienlaikus pieauga OS rādītāji: 8-hidroksi-deoksiguanozīns un 4-HNE modificētie proteīni. Pelēm četru nedēļu ilga angiotenzīna II tipa pirmā receptora antagonista – valsartāna – (5 mg/kg) lietošana *per os* samazināja gp91^{phox} un p22^{phox} palielināto ekspresiju, OS rādītājus un atjaunoja insulīna sekrēciju. Iegūtie dati liecina,

ka ar angiotenzīnu II ierosinātajai NADPH oksidāžu ekspresijai ir svarīga loma OS palielināšanā 2TCD β šūnās [Nakayama et al., 2005].

Lai gan GSH sintēzes ātrumu limitējošā fermenta γ-glutamilcisteīna ligāzes (γ-GCL) gēna ekspresija aizkuņģa dziedzera salīnās ir pietiekama, tomēr diabēta slimniekiem tika konstatēts pazemināts GSH līmenis [Jain et al., 1994; Giugliano et al., 1996; Ceriello, 2000]. Pētījumā tika konstatēts, ka ilgstoša pacienta pakļaušana augstai glikozes koncentrācijai, samazina γ-GCL ekspresiju mežānhiālās, kā arī tīklenes šūnās, un tas kavē GSH veidošanos [Lu et al., 1999; Catherwood et al., 2002].

Aizkuņģa dziedzera salīnas ir starp tiem audiem, kuros ir vismazākā endogēno antioksidatīvo enzīmu ekspresija, ieskaitot SOD-1, SOD-2, KAT un GPx [Grankvist et al., 1981; Hedge et al., 1997]. Eksperimentālajos pētījumos tika konstatēts, ka transģenētiskiem dzīvniekiem ar paaugstinātu SOD, KAT un GPx ekspresiju aizkuņģa dziedzera β-šūnām ir lielāka tolerance pret diabēta izraisīto OS [Kubish et al., 1994; Tiedge et al., 1998], kas norāda uz antioksidatīvo enzīmu lielo nozīmi aizsardzībai pret ASF ierosināto slimību.

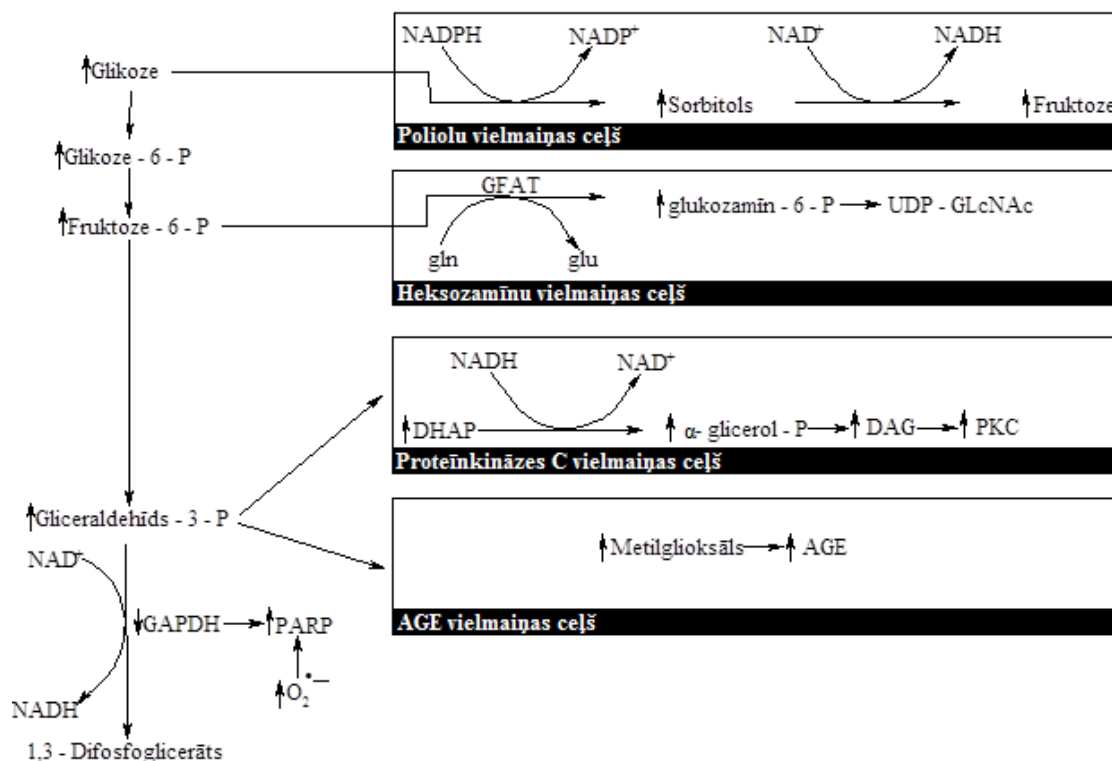
Diabēta vaskulārās komplikācijas traucētas asins cirkulācijas dēļ ir galvenais iemesls, kāpēc rodas aklums, nieru bojājumi, miokarda infarkts, trieka un nepieciešama ekstremitāšu amputācija. Mikrovaskulārās CD komplikācijas saistītas ar pārmērīgu Mth superoksīdanjona veidošanos mazo asinsvadu endotēlijā šūnās ilgstošas iekššūnu hiperglikēmijas apstākļos. Mikrovaskulārās CD komplikācijas galvenokārt attīstās audos, kuros glikozes asimilācijai šūnās nav nepieciešams insulīns un nav regulējošu mehānismu glikozes transporta samazināšanai hiperglikēmijas gadījumā. Makrovaskulārās CD komplikācijas lielo asinsvadu endotēlijā šūnās un sirds muskuļaudos veicina insulīna rezistences izraisīta pastiprināta taukskābju oksidācija [Brownlee, 2005; Giacco et al., 2010].

Vairumā pētījumu pierādīts, ka būtiska loma vaskulāro komplikāciju attīstībā ir hroniskai hiperglikēmijai, kuras mehānisms šo komplikāciju attīstībā vēl joprojām nav līdz galam izziņāts [The diabetes control and complications trial research group, 1993; UKPDS group, 1998; Holmasn et al., 2001; Nathan et al., 2005].

Izvirzītas vairākas hipotēzes, kāpēc hiperglikēmija izraisa diabēta komplikācijas:

- 1) poliolu vielmaiņas ceļa aktivācija ar sekojošu sorbitola uzkrāšanos;
- 2) glikozes ierosināta proteīnkināzes C izoformu aktivācija, izmantojot *de novo* sintezēto lipīdu otrējo mesendžeru – diacilglicerolu (DAG);
- 3) AGE palielināšanās; kā arī AGE receptoru (RAGE) ekspresijas un to aktivējošo ligandu daudzuma palielināšanās;
- 4) palielināts OS;

5) heksožamīnu vielmaiņas ceļa aktivācija ar UDP-N-acetilglikozamīna pārprodukciju, kurš ir substrāts iekššūnu proteīnu glikozilēšanai, tajā skaitā transkripcijas faktora, tādējādi ietekmējot gēnu ekspresiju.



1.9. att. Superoksīda pārprodukcija Mth aktivē četrus galvenos vielmaiņas ceļus, kuri saistīti ar hiperglikēmijas izraisītiem bojājumiem, nomācot GAPDH (glicerāldehīda-3-fosfāta dehidrogenāzi)

DHAP–dihidroksiācetonfosfāts; GFAT– glutamīnfruktozes-6-fosfātaamīnotransfērāze; GL_cNA_c – N-acetil-D-glikozamīns; UDP-GL_cNA_c – UDP-N-acetilglikozamīns; DAG – diacilglicerols; GAPDH – glicerāldehīd-3-fosfātdehidrogenāze; PARP – poli (ADP-riboze) polimerāze; gln – glutamīns; glu – glutamāts; AGE – (advanced glycation endproducts) dziļās glikēšanas galaprodukti.
[adaptēts pēc Brownlee, 2001]

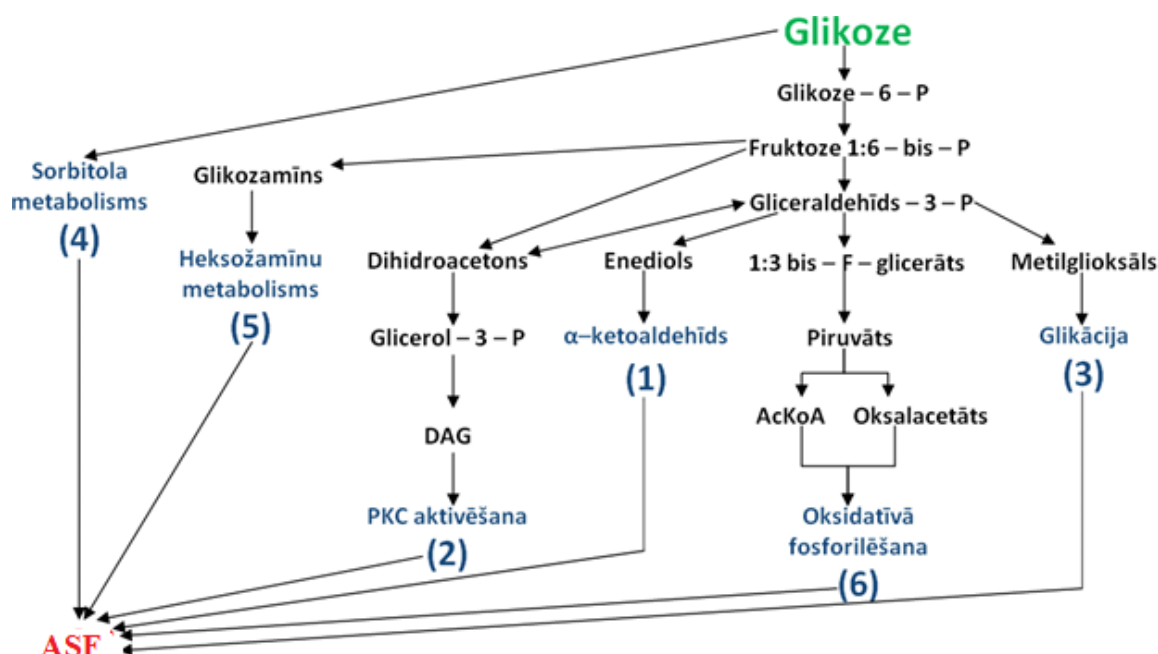
Tiek uzskatīts, ka visus vielmaiņas signālceļus apvieno pastiprināta aktīvo skābekļa formu veidošanās Mth un ka tieši OS ir būtiska loma diabēta komplikāciju veidošanās gaitā, sevišķi slimniekiem ar sliktu glikozes kontroli [Eiichi *et al.*, 2010].

Brīvie radikāļi veidojas, oksidējoties pašai glikozei. Mainīgas valences metālu atkarīgajās reakcijās glikozes endiola formas oksidējas par endiola radikāļa anjoniem, kuri tālāk veido reaktīvos ketoaldehīdus un superoksīda radikāļus. Superoksīda radikāļi pakļaujas tālākai dismutācijai par hidroģenperoksīdiem, kuri, ja netiek sadalīti ar KAT vai GPx, tālāk mainīgas valences metālu klātbūtnē veido ekstremāli reaktīvu hidroksilradikāli. Glikozes pārvēršanās sorbitolā ir zināma kā poliolu vielmaiņas ceļš. Citozola enzīms – aldozes reduktāze – pārvērš paaugstināto intracelulārās glikozes koncentrāciju līdz sorbitolam,

izmantojot pentožu fosfātu metabolisma cikla kofaktoru nikotīnamīdadenīdinukleotīdfosfātu (NADPH), kurš savukārt nepieciešams GSH veidošanai. Tādējādi hiperglikēmija netieši ietekmē GSH izsīkšanu un sekojoši nenodrošina GPx darbību [Williamson *et al.*, 1993].

Sorbitola oksidēšanās ar NAD^+ palielina citozolā $\text{NADH} / \text{NAD}^+$ attiecību, kurai ir tendence inhibēt gliceraldehīd-3-fosfāta dehidrogenāzes (GAPDH) aktivitāti un līdz ar to veicināt triožu fosfātu, metilglioksāla un DAG līmeņu palielināšanos. Diacilglicerola sintēze sākas ar glicerol-3-fosfātu, kas ir nestabils un fosforilējas, veidojot fosfatīdskābi, vai sadalās līdz arahidonskābei.

Hiperglikēmijā, “pateicoties” diacilglicerola sintēzei, vaskulārajās šūnās *de novo*, membrānu frakcijās aktivējas PK-C, kas savukārt aktivē PK-C atkarīgās NADPH-oksīdāzes [Inoguchi *et al.*, 2000].



1.10. att. Seši bioķīmiskie vielmaiņas ceļi pa kuriem glikoze veido ASF.

[adaptēts pēc Robertson, 2004]

NADPH-oksīdāze atrodas ne tikai fagocītos, bet arī endoteliālajās šūnās, asinsvadu gludās muskulatūras šūnās, fibroblastos un mezangiālās šūnās. NADP-oksīdāze un ksantīnoksīdāze ir galvenie enzīmi, kuri producē visvairāk ASF, konkrēti – superoksīda radikāļus.

Hroniska hiperglikēmija paaugstina neenzimātisko glikēšanu, ko raksturo ogļhidrātu saistīšanās ar proteīniem, kā rezultātā veidojas AGE. Hiperglikēmija veicina neenzimātisku glikēšanu ar proteīniem, t. sk. ar antioksidatīvajiem enzīmiem, radot to funkcionālas izmaiņas. Cilvēka eritrocīti satur glikozilēto un neglikozilēto Cu, Zn-SOD formu. Glikozilētā Cu, Zn-

SOD forma nozīmīgi pieaug diabēta slimnieku eritrocītos, salīdzinot ar normāliem eritrocītiem [Arai, 1988]. Dati par eritrocitārās Cu, Zn-SOD aktivitāti diabēta pacientiem ir pretrunīgi, lai gan pārsvarā norādīts par aktivitātes pazemināšanos, kas padara endotēliju daudz uzņēmīgāku pret superoksīda kaitējumiem [Szaleczki *et al.*, 1999].

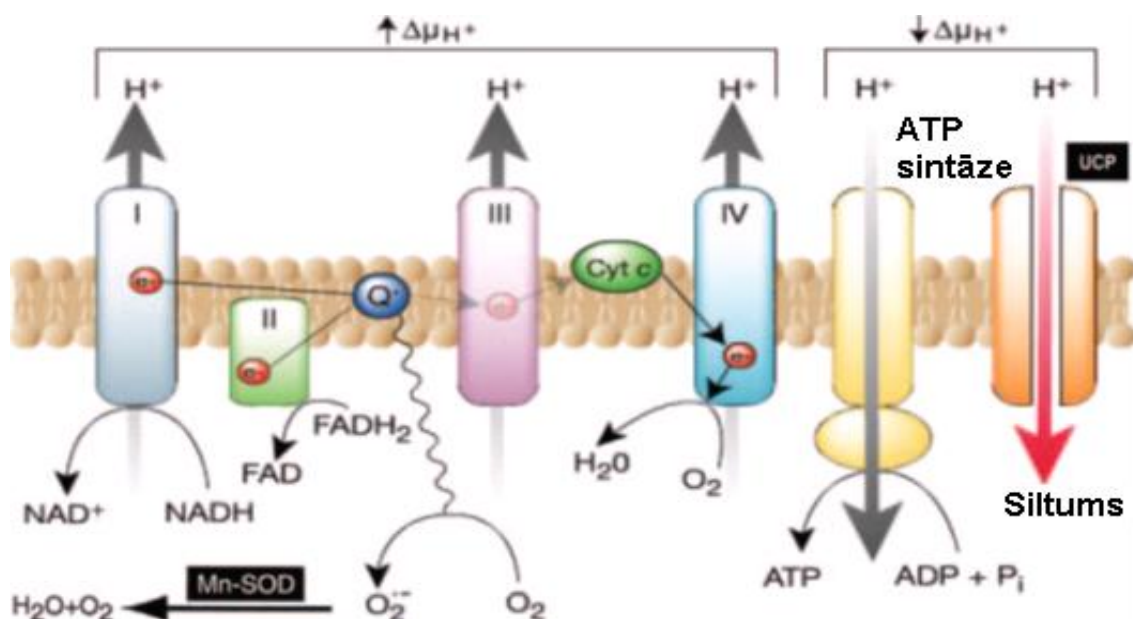
Daudzi pētījumi liecina, ka β šūnu disfunkcija saistīta ar ilgstošu hiperglikēmiju un paaugstinātu brīvo taukskābju (BTS) līmeni vai ir abu divu iedarbības rezultāts. Glikoze vai BTS veicina ASF veidošanos muskuļos, adipocītos, aizkuņģa dziedzera β šūnās un citās šūnās. Palielināts BTS līmenis plazmā izraisa intramiocelulāro lipīdu akumulāciju, kas ir insulīnrezistences attīstības iemesls un aizkuņģa dziedzera β šūnu bojāejas iemesls. Palielinoties BTS oksidācijai, pieaug NADH / NAD⁺ attiecība, un rezultātā samazinās piruvātdehidrogenāzes aktivitāte un glikozes oksidācija, bet palielinās ASF veidošanās. [Taylor *et al.*, 2006].

Tikai nesen tika atklāts, ka Mth disfunkcijas ir diabēta etioloģiskais factors, un tas saistīts ar aizkuņģa dziedzera β šūnu darbības traucējumiem, insulīna rezistenci, aptaukošanos un vaskulārām diabēta komplikācijām.

Periferālo Mth DNS kopiju skaits samazinās jau 2TCD saslimšanas sākuma stadijā [Kwak *et al.*, 2010].

Mth svarīgākās funkcijas, kuras saistītas ar diabēta patoģenēzi, ir ATP veidošanās oksidatīvās fosforilēšanās rezultātā, ASF veidošanās un apoptozes regulēšana.

Glikoze metabolizējas glikolīzē līdz piruvātam un nonāk Mth, lai tālāk iekļautos trikarbonskābju cikla (TKC) metabolisma procesā. Turpretī taukskābes iekļaujas Mth ar karnitīna palmitoiltransferāzes palīdzību un pakļaujas β oksidācijai, lai veidotu acetil-KoA tālākai metabolizēšanai TKC. Trikarbonskābju cikla un β oksidācijas procesā veidojas reducētie ekvivalenti NADH un FADH₂. Elektroni no NADH un FADH₂ dodas uz elektronu transporta ķēdes I un II kompleksu un tālāk – secīgi caur KoQ₁₀ – uz III kompleksu un caur citohromu c – uz IV kompleksu. Mitohondriju membrānas I un III kompleksā normālos fizioloģiskos apstākļos veidojas superoksīdanjons, bet diabēta apstākļos II komplekss kļūst par primāro šā radikāļa veidošanā.



1.11. att. ASF veidošanās mitohondriju elektronu transporta ķēdē.

Kultivētās endoteliālajās šūnās elektronu donori – NADH un FADH₂ – veidojas glikozes oksidēšanas laikā, tai ģenerējoties līdz piruvātam, kas tālāk iesaistās TKC. Elektronu plūsma caur elektronu transporta ķēdi Mth iekšējā membrānā sūknē protonus uz starpmembrānu telpu. Diabēta gadījumos ar augstu intracelulāro glikozes koncentrāciju vairāk producējas piruvāts, aktivējās TKC, palielinot elektronu plūsmu no donoriem – NADH un FADH₂ – elektronu transporta ķēdē. Rezultātā potenciāla gradients Mth starpmembrānas telpā palielinās līdz kritiskam sliekšnim. Elektronu pārnese III kompleksā tiek traucēta, rezultātā no koenzīma Q elektroni pa vienam tālāk pārvietojas uz molekulāro skābekli, tādējādi radot superoksīda anjona radikāli. Mitohondriju izoenzīms SOD pārveido šo radikāli par ūdeņraža peroksīdu, kurš tālāk ar citu enzīmu palīdzību pārveidojas par H₂O un O₂. Protoni, lai izlīdzinātu koncentrācijas gradientu, atgriežas caur iekšējā membrānā esošo enzīmu – ATP sintāzi (ATP veidošanās) vai arī caur UCPs, kur protonu enerģija tiek izkliedēta siltuma veidā.

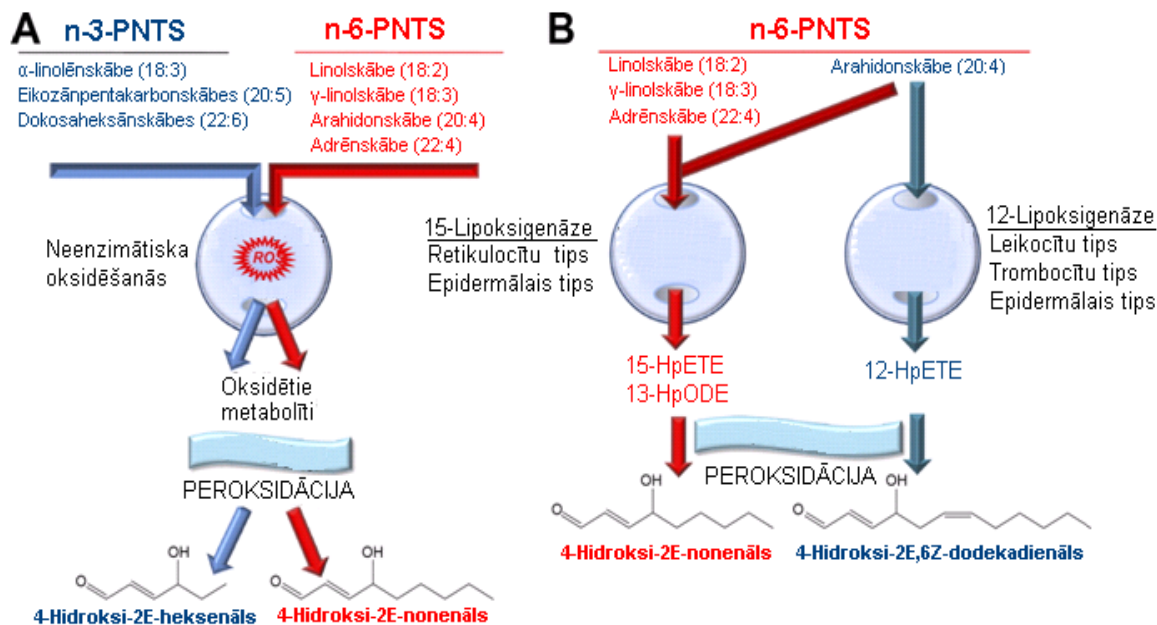
[adaptēts pēc *Giacco et al.*, 2007]

Mitohondrijos veidojošās ASF bojā proteīnus, lipīdus un Mth DNS. Mitohondriālai DNS nav intronu un tā ir vāji apgādāta ar reparācijas mehānismiem, tādējādi padarot to uzņēmīgāku pret oksidatīvajiem bojājumiem un mutācijām. Mitohondriālā DNS akumulējas līdz ar gadiem, un šīm mutācijām ir nozīme novecošanās procesā un diabētā.

Mitohondriji ir arī primārais apoptozes regulators. Sastopoties ar šūnas stresu, Mth atver Mth caurlaidības pārejas poru, kas ļauj no Mth atbrīvoties proteīniem – c citohromam, kaspāzei – un apoptozes iniciācijas faktoram. Kaloriju pārprodukcija vai fiziskā inaktivācija var traucēt elektronu pārnesei caur elpošanas ķēdi, veicinot ASF akumulāciju, kam seko apoptoze dažādās šūnās un audos. Hiperglikēmijas un BTS akumulācijas dēļ tiek ierosināta β šūnu apoptoze.

Malondialdehīda un 4-HNE palielināšanās diabēta pacientiem liecina par LPO aktivēšanos un ir saistīta ar hiperglikēmijas procesā palielināto ASF veidošanos. 4-hidroksinonenāla loma diabēta patoģenēzē vēl nav noskaidrota. Tiek diskutēts par tā uzkrāšanos un signālsistēmas aktivēšanos [Traverso *et al.*, 2002]. Hiperglikēmija palielina (sk. 1.12. att.) 12- un 15- lipoksigenāzes izotipu ekspresiju, izraisot paaugstinātu 4-HNE un 4-HDDE priekšteču – 12- un 15-hidroperoksieikozatetraenskābju (HpETE) producēšanos.

2TCD pacientiem konstatēts ievērojams 4-HNE modificētā albumīna pieaugums serumā [Toyokuni *et al.*, 2000; Negre-Salvayre *et al.*, 2010].



1.12. att. **4-hidroksialkenālu veidošanās mehānisms.**

A: 4-hidroksi-2E-heksenāla (4-HHE) un 4-hidroksi-2E-nonenāla (4-HNE) neenzimātiskā veidošanās, attiecīgi no n-3 un n-6 polinepiesātinātām taukskābēm (PNTS). **B:** lipoksigenāzes ierosinātā lipīdu peroksidācija no n-6 PNTS un 4-HNE un 4-hidroksi-2E,6Z-dodekadienāla (4-HDDE) veidošanās.

12-hidroperoksiiekosatetraenoskābe (12-HpETE); 13-hidroperoksioktadekadienoskābe (13-HpODE).

[adaptēts pēc Riahi, 2010]

Novērots, ka žurku hipokampā streptozotocīna ierosinātā diabēta gadījumā glikozes transportieris 3 (GLUT3) konjugējas ar 4-HNE, un līdz ar to tiek traucēta glikozes utilizācija neironos [Reagan *et al.*, 2000].

Pētījumā *in vitro* 4-HNE pievienošana glikoze-6-fosfātdehidrogenāzes lizīna atlikuma ϵ -aminogrupai inaktivēja enzīma darbību [Szweda *et al.*, 1993]. 4-hidroksinonenāls ierosina β šūnu apoptozi, tieši savienojoties ar kaspāzi-3 [Hoff *et al.*, 1993]. Jutīgi pret 4-HNE ierosināto inaktivēšanu ir arī Mth elpošanas ķēdes proteīni – adenīnnuklotīdtranslokators, c citohroma oksidāze un TKC enzīmi [Poli *et al.*, 2008].

Pamatojoties uz konstatētajiem datiem, jauna pieeja diabēta ierosināto komplikāciju kavēšanai būtu jāsaista ar diabēta ierosinātās superoksīda pārprodukcijas terapeitisko koriģēšanu. Aizsardzībai pret ASF ir būtiska nozīme, lai uzturētu endotēlija strukturālo un funkcionālo integritāti.

Antioksidanti var aizsargāt no glikozes autooksidācijas, glikācijas un lipīdu oksidēšanās. Flavonoīdi, atbilstoši savai struktūrai, *in vitro* un *in vivo* uzrāda nozīmīgas īpašības, kas kavē AO un AGE veidošanos. Flavonoīdi ir dabiskas izcelsmes savienojumi ar

zemu toksicitāti, tie varētu būt perspektīvi diabēta izraisīto komplikāciju ārstēšanā papildu standartterapijai, un to ārstnieciskais potenciāls cilvēkiem vēl nav izpētīts [Peyroux *et al.*, 2006].

2TCD terapijā tiek lietoti dažādi preparāti, t. sk. insulīns un metformīns. Sintētiskajiem pretdiabēta līdzekļiem bija blaknes, tāpēc papildus tika meklētas līdzīgas iedarbības vielas, lūkojoties starp tradicionāli lietotiem dabiskas izcelsmes līdzekļiem – augiem ar mazākām blaknēm un pašizmaksu. Daži augi, kurus to hipoglikēmiskā efekta dēļ tautas medicīnā lietoja par pretdiabēta līdzekli, ir oficiāli apstiprināti daudzās farmakopejās, un to hipoglikēmiskais mehānisms aizvien tiek pētīts. Viens no preparātiem, kurš strukturāli līdzīgs augu valsts pārstāvim – *Galega officinalis* –, ir metformīns [Brahmachari, 2011; http://en.wikipedia.org/wiki/Galega_officinalis].

Galega officinalis ir jau kopš viduslaikiem pazīstams līdzeklis CD simptomu mazināšanai. Analizējot *Galega officinalis* sastāvu, izrādījās, ka tas satur savienojumu līdzīgu guanidīnam – vielai, kas samazina cukura līmeni asinīs un insulīna rezistenci, bet tas bija pārāk toksisks, lai lietu cilvēkiem. *Georges Tanrets* ieguva no šā auga alkaloīdu – galegīnu –, kurš bija mazāk toksisks, bet tā lietošana klīniskos pētījumos 1920. – 1930. g. pacientiem ar CD bija neveiksmīga. Šajā pašā laikā tika pētīti citi radniecīgi savienojumi, ieskaitot biguanīdu atvasinājumus. Meklējumi vainagojās ar metformīna (*Glucophage*) atklāšanu. Metformīns ir pirmās izvēles antidiabētiskais medikaments 2TCD pacientiem ar palielinātu ķermeņa svaru. Latvijas vadlīnijas, kā arī IDF un ADA (*American Diabetes association*) vadlīnijas, metformīnu iesaka par pirmās izvēles medikamentu 2TCD bāzes terapijā [Bailey *et al.*, 2004].

1.7. Oksidatīvais stress un jonizējošais starojums

1.7.1. Jonizējošais starojums

Jonizējošais starojums jeb radiācija ir starojums, kas mijiedarbībā ar vielu izraisa tās jonizāciju. Pie jonizējošā starojuma pieder radioaktīvo vielu starojums, kā arī starojums, kas rodas kodoltermiskajās reakcijās (γ starojums, α daļiņas, β daļiņas, a *sir*, neitronu, atomu kodolu u. c. daļiņu plūsma), kosmiskais starojums, rentgenstarojums un nosacīti – arī ultravioletais starojums. Ir trīs galvenās cilvēka radīto jonizējošā starojuma avotu izmantošanas jomas: pirmkārt, medicīnā vēža ārstēšanai un slimību diagnostikai; otrkārt, radioaktīvie materiāli rūpniecībā – mērīšanai un elektrības ražošanai. Gan medicīnā, gan rūpniecībā veidojas radioaktīvie atkritumi. Treškārt, militārā joma. Dabā paliek agrāko

kodolieroču eksploziju un avāriju nogulsnes. Jonizējošais starojums bojā audus atkarībā no absorbētās enerģijas daudzuma vai saņemtās devas – absorbētās devas. Absorbēto devu izsaka ar mērvienību grejs (Gy), kas atbilst vienam džoulam enerģijas uz vienu masas kilogramu. Audu bojājumi ir atkarīgi no starojuma veida, piemēram, α daļiņu absorbētā deva ir daudz kaitīgāka nekā tāda pati β daļiņu deva.

Lai izvērtētu visa jonizējošā starojuma potenciālo kaitīgumu, tika ieviesta izsvērtā jeb ekvivalentā deva, un tās mērvienība ir zīverts (Sv). Ekvivalentā deva ir vienlīdzīga ar absorbēto devu, reizinot ar starojuma izsvērto faktoru. γ stariem, rentgena stariem un β daļiņām šis *a sir* ir 1, bet α daļiņām – 20. Jāņem vērā, ka risks nav vienāds visiem ķermeņa audiem, piemēram, *a sir* zemāks kaulu virsmām nekā krūts dziedzeru audiem. Šīs audu īpašības tiek ņemtas vērā, aprēķinot ekvivalento devu ķermeņa orgāniem un audiem. Ekvivalento devu summa veido tā saukto efektīvo devu, kas sniedz informāciju par cilvēka veselības apdraudējumu. Lielāko daļu vidējās gada starojuma devas cilvēki saņem no vides. Katrs cilvēks pasaulē ir pakļauts vidēji 2,4 mSv/gadā jonizējošam starojumam no dabiskiem avotiem. Efektīvās devas pamata limits iedzīvotājiem nedrīkst pārsniegt 1 mSv/gadā, neieskaitot apstarojumu no dabiskajiem jonizējošā starojuma avotiem un medicīniskās apstarošanas laikā [www.vi.gov.lv].

1.7.2. Jonizējošā starojuma iedarbība uz organismu

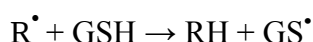
Radiācija izraisa šūnu bojājumus, ja personas saņēmušas staru terapiju, ārstējot vēzi, bija pakļautas rentgenstariem, kodolenerģijai, kodolieroču radioaktīvajiem nokrišņiem.

Jonizējošā radiācija bojā un iznīcina dzīvās šūnas, to struktūras, bet ne mazāk svarīgi ir apjaust, ka radiācija izraisa arī sekundāras sekas – ārkārtīgi intensīvu brīvo radikāļu un ASF veidošanos, turklāt lielākoties nekontrolētu un nekompensētu. Radiācija rada ne tikai tiešos struktūru bojājumus, bet arī iedarbojas uz organismu ilgtermiņā, lielākoties palielinot iespējas saslimt ar vēzi un citām ar ASF saistītām slimībām. Nesalīdzināmi vairāk cilvēku, kas piedzīvoja un izdzīvoja, kad atombumbu nometa Hirosimā, aizgāja bojā vēlāk no pēcradiācijas slimībām – leukēmijas, limfomām, citiem ļaundabīgajiem jaunveidojumiem.

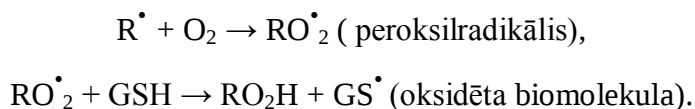
Kā jonizējošā radiācija iedarbojas uz dažām molekulām un kā jonizācijas iedarbības dēļ veidojas ASF?

Vienmēr, kad no molekulas tiek “aizvākts” elektrons, fotonu veidā izstarotā enerģija var radīt situāciju, kurā iespējama molekulu jonizācija. Parasti redzamais un ultravioletais starojums ir nepietiekami intensīvs, lai izsauktu biomolekulu jonizāciju. Ko nav spējīga veikt gaisma, to var viegli izdarīt γ -stari kopā ar “augstas enerģijas” (*high energy*) elektroniem jeb

β daļiņām (stariem), neitroniem, kodolskaldīšanas procesā izveidotajiem fragmentiem, α daļiņām (stariem). Parasti šo “kokteili” dēvē par jonizējošo radiāciju. Kad jonizējošā radiācija iziet caur kādu bioloģisko sistēmu, enerģija netiek uzkrāta, bet tā ir iedarbojusies vai ietekmējusi molekulu, jonu un elektronu, radot vai nu jonizāciju vai ierosinājumu. Viens no ASF kārotākajiem mērķiem ir DNS, jo uzbrukumi var tikt vērsti pret jebkuru DNS spirāles struktūras posmu gan tur, kur ir dubultspirāle, gan kur ir vienpavediena polinukleotīdu ķēde, gan – riboze. Brīvie radikāļi nešķiro arī to, kura ir ribosomālā, transporta, matricas vai informācijas RNS – tiek grautas visas. Pacienti, kuri iziet staru terapiju, ievērojami palielinās 8-hidroksiguanīna koncentrācija limfocītu DNS, pat tik ievērojamā daudzumā, ka tas ir nosakāms pacienta urīnā. Jau sen izpētīts, ka skābekļa klātbūtne šūnā pastiprina jonizējošās radiācijas postošo darbību. Tā palielinās 2–3,5 reizes. Hidroksil- un daži citi radikāļi, uzbrūkot biomolekulai, atšķel H. Tā rezultātā radikālis, reaģējot ar GSH vai, iespējams, askorbīnskābi, var esošo procesu “uzlabot”:



Radiobiologi ir konstatējuši, ka skābekļa molekulai, atrodoties tuvu citiem radikāļiem un stājoties reakcijās ar tiem, tiek izslēgta iespēja tam reģenerēties, t. i.:



Glutationam piemīt svarīga loma šūnas aizsardzībā pret jonizējošo radiāciju, tādēļ nereti pirms staru terapijas slimnieki saņem preparātus, kuri inhibē GSH sintēzi, lai tādējādi netiktu likti šķēršļi vēža šūnu iznīcināšanai. Te var minēt GSH priekštečus – citus timolus, piemēram, cisteamīnu, merkaptopropionilglicīnu u. c. Protams, netiek izslēgti vairāki radioprotekcijas mehānismi – gan tiešie, gan pastarpinātie. Var minēt, ka tioli darbojas gan kā radikāļu “ķērāji” (tieši), gan caur GPx (pastarpināti). Tioli ir spējīgi reaģēt ar $RO_2^{\bullet}$, novēršot ķēžu reakciju attīstības iespējamību [Tirzītis, 2007].

Pakļaujot zīdītāju šūnas jonizējošai radiācijai, veidojas jonu pāri un brīvie radikāļi. Ir pierādījies, ka DNS ir brīvo radikāļu galvenais mērķis apstarotā šūnā [Fleck et al., 1999].

Radiācijas devas, ko izmanto terapijā, normālās šūnās noārda α - tokoferolu, tādējādi palielinot to bojāšanas risku. Pētījumi ar dzīvniekiem ir parādījuši, ka visa ķermeņa

pakļaušana rentgena starojumam samazina audos C vitamīnu (VC) un VE. Krūts vēža ārstēšanas laikā radioterapijas vai adriamicīna lietošana veicina pastiprinātu ASF veidošanos un sekojoši A, C, E vitamīna un Se daudzuma samazināšanos, kas var palielināt normālo audu jutīgumu pret starojumu [Borek, 2004].

1.7.3. Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji

Katastrofu seku medicīniskā izpēte nepieciešama praktisku apsvērumu dēļ, jo ļauj papildināt mūsu zināšanas par JS ietekmi uz cilvēka organismu. Hirosimā un Nagasaki šis darbs turpinās vairāk nekā 60 gadus. Tā kā 28 gadu “pēc Černobiļas” periods noteikti nav pietiekams galīgajiem rezultātiem, pētījumi joprojām turpinās. Izpētes grupās tika iekļautas personas, kuras saņēmušas mazas JS devas, piedaloties Černobiļas AES katastrofas seku likvidācijā.

1986. gada 26. aprīlis ir kļuvis par neatgriezenisku likteņa pavērsiena punktu vairāk nekā 6000 tūkstošiem Latvijas iedzīvotāju un viņu ģimeņu. Šī diena mainīja ne tikai cilvēku dzīves, bet ienesa ievērojamas korekcijas visas Eiropas saimnieciskajā un finanšu sistēmā.

Padomju “kodolzinātnes eksperimenta” rezultātā uz cilvēkiem iedarbojās ne tikai jonizējošā radiācija, bet atmosfērā nonāca radioaktīvie izotopi (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{106}Ru , ^{131}I) un putekļi, cilvēki cieta no nekvalitatīvas pārtikas, ūdens, no fiziskas pārpūles un psihoemocionālās spriedzes. Šo kaitīgo faktoru dēļ jau sākotnēji konstatēja akūtu OS, kas vēlāk pārgāja hroniskā formā [Kumerova et al., 2000]. Pašreiz par Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem pieņemts lietot terminu “ilgstošs hronisks OS”, kura pastāvīgas un ilgstošas iedarbības laikā ir gan lipīdi un proteīni, kuri lokalizēti šūnu membrānās intra- un ekstracelulārās struktūrās, gan arī enzīmi un hormoni. Tā kā Latvijas Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji atgriezās Latvijā pēc avārijas darbiem relatīvi tīrā (no ekoloģiska viedokļa) vidē, izmaiņas viņu organismā attiecināmas uz JS iedarbības attālām sekām. Jāņem vērā, ka šūnu struktūras arvien tiek bojātas, jo organismā ir iekļuvuši radionuklīdi, kuri veicina slimību attīstību.

Vispārējā saslimstība Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju vidū ir ievērojami augstāka nekā vidēji populācijā, pārsvarā – nervu, endokrīnās, asinsrites, onkoloģiskās u. c. kaites. Saslimstībā ar ļaundabīgiem audzējiem no 1990. līdz 2005. gadam pirmo vietu ieņēma plaušu ļaundabīgie audzēji, priekšdziedzera un kuņģa jaunveidojumi – otro vietu. Salīdzinot saslimstības biežumu AES avārijas seku likvidētājiem ar Latvijas vīriešu saslimstības rādītājiem atbilstošajās vecuma grupās no 35 līdz 69 gadiem laika posmā no 1998. līdz 2005. gadam – prostatas un vairogdziedzera ļaundabīgie audzēji viņiem attiecīgi

bija 3,86 un 7,62 reizes biežāk. Zinot radiācijas radīto bioloģisko efektu patoģenēzi un inkorporēto radionuklīdu ietekmi uz audiem, prognozējama ļaundabīgo audzēju skaita palielināšanās arī turpmāk [Eglīte, 2012].

Pēc mazas starojuma devas:

- 1) mainās biomakromolekulu, šūnu, orgānu, organismu jutība pret citiem kaitīgiem faktoriem;
- 2) var novērot ilgstošus vēlinus pēcefektus;
- 3) membrānas ir visjutīgākās pret tā darbību;
- 4) OS rādītāji ievērojami mainās.

Pēc mazas radiācijas devas stresa reakcijas izrāda tādas pašas aktivitātes kā saņemot 20–30 reižu lielākas starojuma devas, kas ir pietiekošas daudzu slimību izraisīšanai Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā [Burlakova et al., 1989].

Pagājušā gadsimta 70. gados, pētot pacientu plazmu gan pēc terapeitiskās, gan pēc nejaušas apstarošanas, tika atklātas vielas, kuras izraisa hromosomu bojājumus, un tās tika nosauktas par klastogēniem faktoriem (KLF). Pierādīts, ka pat 30 gadus pēc atombumbas sprādziena un 10 gadus pēc Černobiļas AES katastrofas cilvēka asins plazmā var noteikt klastogēno aktivitāti, kas ir viens no riska faktoriem JS attālām sekām. Pētījumā tika konstatēts, ka 27% Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem, kuri bija emigrējuši uz Izraēlu un vairs neatradās ar radiāciju piesārņotā vidē, organismā varēja noteikt KLF. Klastogēnie faktori ir atrasti arī pacientu plazmā ar OS saistītām dažādām patoloģijām – reimatoīdo artrītu, sarkano vilkēdi, čūlaino kolītu, Krons slimību, HIV u. c. Starp KLF un OS rādītājiem (TBS_MDA, SH-gr. u. c.) ir atrastas korelatīvas sakarības. Klastogēno faktoru veidošanās un sekojošs hromosomu bojājums ir pastarpināts ar dažādas izcelsmes paaugstinātu superoksīda radikāļu rašanos, tos neitralizē enzīms – SOD. Savukārt KLF arī paši ierosina šā radikāļa veidošanos no monocītiem un neitrofiliem.

Izšķir trīs galvenos ķīmiskas dabas endogēnos klastogēnus:

- 1) LPO produkti, kuri rodas arahidonskābes metabolismā, sevišķi 4-HNE;
- 2) citokīns – TNF- α ;
- 3) nukleotīdi – inozīna di- un trifosfāti.

Nemot vērā superoksīdanjona lielo lomu KLF un OS veidošanā, Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji no Armēnijas divus mēnešus lietoja *Ginkgo biloba* (3 x 40 mg/d.) preparātu, kura AO īpašības izpaužas kā superoksīdanjonu “ķērājs”. Jau pirmajā dienā pēc AO terapijas novēroja KLF samazināšanos līdz kontroles līmenim. Veicot pēcpārbaudes viena gada garumā, izrādījās, ka *Ginkgo biloba* novērotā efektivitāte uz klastogēno aktivitāti saglabājas vismaz septiņus mēnešus. Vienai trešdaļai pētījumu dalībnieku vēl joprojām

plazmā tika atrasti cirkulējošie KLF [Emerit *et al.*, 1995; Emerit, 1998; Emerit, 1999; Emerit, 2007].

Nemot vērā, ka Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ir ilgstošs hronisks OS un vienlaikus notiek ASF veidošanās, kas pastiprina pēcradiācijas efektus apstarotajās šūnās (fibrozi, hroniskus iekaisumus un onkoģenēzi), tika izteikta hipotēze, ka AO – gan ūdenī šķīstošo, gan lipīdos šķīstošo (VE, Se, KoQ₁₀) – lietošana varētu koriģēt OS rādītāju un onkomarķiera – prostatas specifiskais antigēns (PSA) – izmaiņas kopā ar vienu no neselektīvajiem pretiekaisuma līdzekļiem ibuprofēnu. Onkomarķieris PSA tiek lietots par prostatas vēža slimības attīstības un terapijas efektivitātes indikatoru. Pacienti ar prostatas vēzi PSA koncentrācija asinīs parasti ir paaugstināta, jo palielinās PSA producējošo šūnu skaits prostatā un metastāzēs, kā arī pastiprinās šūnu darbības intensitāte audzēja audos. PSA paaugstinātu koncentrāciju var novērot arī pacientiem ar labdabīgu prostatas hiperplāziju, kā arī ar prostatas iekaisuma slimībām. Paralēli ar PSA bija noteikts cits, plaši izmantots onkoloģiskais marķieris – karcinoembriālais antigēns (CEA). Lai gan tas nav ne audzējspecifisks, ne orgānspecifisks, ar CEA palīdzību var noteikt daudzus atšķirīgus audzējus un neonkoloģiskas patoloģijas: rektālu karcinomu, kuņģa karcinomu, aizkuņģa dziedzera karcinomu (kopā ar CA 19–9 par pamatmarķieri), krūts dziedzera karcinomu (kopā ar CA 15–3 kā pamatmarķieri), aknu karcinomu, olnīcu karcinomu (kopā ar CA 125 par pamatmarķieri), vairogdziedzera medulāru karcinomu, kā arī zarnu trakta, aizkuņģa dziedzera, aknu un plaušu slimības.

No neonkoloģiskām saslimšanām Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem sastopams CD. Latvijas Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju vidū CD ir konstatēts aptuveni vienādi bieži gan zemes darbu strādātājiem, gan pārējo darbu veicējiem Černobiļā, attiecīgi prevalence uz 1000 cilvēku – CD 74 un 68, insulīnneatkarīgs CD 61 un 61 [Reste, 2013]. Palielināts risks saslimt ar CD ir reģionos, kuros ir paaugstināts radiācijas līmenis. Gomeļas apgabalā Baltkrievijā, piemēram, pēc Černobiļas AES katastrofas ir konstatēts, ka saslimšana ar insulīnneatkarīgo diabētu dubultojusies salīdzinājumā ar iepriekšējiem gadiem un citiem valsts reģioniem [Martinucci *et al.*, 2002]. Harkovā 1990. – 2009. g. konstatēts, ka Černobiļas AES seku likvidētājiem pieaugusi saslimstība ar 2TCD sešas reizes, kas ir vairāk salīdzinot ar diabēta izplatību iedzīvotāju vidū visā reģionā un pilsētā tajā pašā laika posmā (palielinājās 2,4 reizes). 2TCD izplatība Černobiļas AES seku likvidētāju vidū 2009. g. bija 3,6%, no kuriem 7,8% pacientu saslimšana diagnosticēta pirmo reizi [Горбачева, 2011].

Turpmāk šajā darbā (IV pētījumā) sīkāk tiks aplūkots, kādas ir atšķirības OS un AO aizsardzības sistēmas rādītājos Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD, salīdzinot ar 2TCD pacientiem.

1.8. Antioksidantu un citu preparātu pielietojums OS korigēšanai

Antioksidantus cilvēks var saņemt ar uzturu, pārsvarā ar pārtiku organismā nonākošie neenzimātiskie savienojumi – vitamīni, karotinoīdi, sērorganiskie savienojumi un mikroelementi, bet vislielāko klasi veido polifenoli (fenolskābe un flavonoīdi). Antioksidantiem ir multifunkcionāla aktivitāte dažādu saslimstību gadījumos atšķirībā no zālēm, kuras lieto konkrētā gadījumā kādai noteiktai saslimstībai.

Antioksidatīvajā terapijā tiek izmantoti gan dabiskie, gan sintētiskie preparāti, kurus savukārt pēc to darbības mehānisma iedala četrās kategorijās:

- 1) savstarpēji mijiedarbojas ar ASF enzimatiski – SOD, KAT, GPx vai tieši (dimetilsulfoksīds, A, E, C vitamīns, ubihinons, flavanoīdi, lipoiskābe u. c.);
- 2) pastiprina šūnas AOS (piemēram, N-acetilcisteīns palielina intracelulārā GSH koncentrāciju; vairāki metāli darbojas kā kofaktori; vara un / vai cinka lietošana palielina SOD aktivitāti eritrocītos, bet selēns aktivizē GPx);
- 3) dzelzi helatējošie substrāti (21-aminosteroīdus un bioflavonoīdus lielā daudzumā satur *Ginkgo biloba*);
- 4) enzīmu inhibitori, kuru darbības rezultātā veidojas ASF, piemēram, ibuprofēns inhibē COX-2 [Marechal et. al., 2003].

1.8.1. Selēns

Selēns ir būtisks mikroelements, un tas nepieciešams, lai sekmīgi funkcionētu Se saturošie proteīni (selēnproteīni), pie kuriem pieder enzīmi ar AO aktivitāti, un vēl šis mikroelements būtisks vairogdziedzera hormonu produkcijā un imūnsistēmas darbībā. Cilvēka organismā atklāti aptuveni 25 selēnproteīni. Selēnproteīni satur aminoskābi Se-Cys.

Visaugstākais Se daudzums audos atrodas nierēs, aknās, muskuļos un vairogdziedzerī.

Selēna statusu izvērtē pēc tā satura uzturā, audos – nagos, matos, asinīs, urīnā un pēc Se atkarīgās GPx aktivitātes. Selēna statusa novērtēšanai pēc GPx aktivitātes, salīdzinot ar citām metodēm, ir priekšrocība, jo t. i. bioloģiski aktīvs GPx un nepārstāv inerto Se, kas ir komplektā ar smagajiem metāliem vai nespecifiskajiem savienojumiem proteīnos. Glutationperoksidāzes molekula satur četrus Se atomus Se cisteīna veidā (Se-Cys).

Dabiskos apstākļos Se nonāk cilvēka un dzīvnieku organismā galvenokārt Se saturošo aminoskābju Se metionīna (Se-Met) un Se-Cys veidā. Organisma mākslīga apgādāšana ar Se alimentāra deficīta gadījumā var notikt arī nātrija selenīta vai selenāta formā. Se-Cys pārsvarā atrodas dzīvnieku, turpretī Se-Met – augu izcelsmes pārtikā. Selēns organismā vislabāk

absorbējas (līdz pat 90%) Se-Met formā. Arī spriežot pēc Se līmeņa urīna ekskrecijā, Se labāk absorbējas Se-Met formā nekā selenīts [Burk et al., 2006].

Se metionīns ir labs Se avots, lai sintezētu specifiskos selēnproteīnus tikai gadījumā, ja organisms ir pietiekoši nodrošināts ar sēru metionīna veidā. Se-Cy, tāpat kā Se-Met, iekļaušanās proteīnos atkarīga no sēra daudzuma, jo Se aizvieto sēra atomu ar Se.

Neorganiskā Se formas ir selenāts un selenīts, kuru uzsūkšanās no gremošanas trakta ir mazāka par 50%. Selēns eliminējas no organisma, galvenokārt ar urīnu. Neorganiskā Se lietošana, salīdzinot ar organisko Se, t. i., rauga Se, nav droša

Selēns tiek saņemts ar uzturu, galvenokārt lietojot Brazīlijas riekstus, graudaugus, sēnes, spinātus, ķiplokus, cāļu gaļu, dzīvnieku subproduktus u. c. Pieaugušiem cilvēkiem dienā jāuzņem 50–200 µg Se. Dienas devas noteikšana katrā valstī var atšķirties, jo tas saistīts ar Se atšķirīgo saturu ekosistēmā, kā arī bioloģisko izmantojamību. Normāls Se līmenis Eiropas populācijā ir 80–120 µg/L. Se deficīts, t. i., mazāk par 60 µg/L, var palielināt varbūtību saslimt ar vēzi par 35% .

Trīs gadu desmitus Se rauga izmantošana par uztura bagātinātāju vai Se avotu pierādīja tā lietošanas drošumu, jo netika konstatēts neviens saindēšanās ar Se gadījums [Schrauzer, 2006]. Par uztura bagātinātāju Se tiek lietots Se-Met veidā, kas iegūts no *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC R646) – selēna rauga. Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde 2012. gada 15. jūnija atzinumā (2) secināja, ka ierosinātajos lietošanas apstākļos no *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC R646) iegūtam Se-Met nav nelabvēlīgas ietekmes uz dzīvnieku veselību, cilvēku veselību vai vidi un ka tā lietošanu var uzskatīt par vērtīgu Se avotu visām dzīvnieku sugām [Komisijas īstenošanas regula, 2003]. Atzīts, ka Se nepietiekamība veicina vairākas slimības. Šīs slimības nav Se deficīta izpausme, bet kaites, pret kuru ierosinātajiem organismiem Se deficīta gadījumā ir pārāk uzņēmīgs. Epidemioloģiskie pētījumi liecina par pazemināta Se līmeņa sakarību ar neirodeģeneratīvām un sirds un asinsvadu slimībām, kā arī ar palielinātu vēža risku. Pēdējos gados iegūtais klīniskais un eksperimentālais materiāls liecina par ciešo saistību starp Se deficītu un noteiktu vīrusu infekciju riska palielināšanos, to skaitā ar jaunu virulento vīrusu modifikāciju rašanos [Rayman, 2000; Luty – Frackiewicz, 2005; Ryan – harshman et al., 2005].

Se ietilpst daudzu enzīmu sastāvā (sk. 1.4. tabulu).

1.4. tabula

Se saturošie enzīmi
[Lyn, 2004]

Selēnenzīma nosaukums	Lokalizācijas vieta
Glutationperoksidāze (GPx)	Plazma, vairogdziedzeris
Gastrointestinālā GPx	Kuņģa un zarnu trakts
Glutationperoksidāze (klasiskā)	Citozols
Fosfolipīdu hidropeoksidāzes glutathionperoksidāze (PHGPx)	Šūnu membrānas
Spermas kodola glutathionperoksidāze	Spermas kodols
Tioredoxīnreduktāze	Audi, āda, vairogdziedzeris
Selēnproteīns P	Asinis, vairogdziedzeris
Jodtironīna dejodināze, I tipa	Aknas, nieres, vairogdziedzeris
Jodtironīna dejodināze, II tipa	Smadzenes

1.8.2. Ibuprofēns

Ibuprofēns ir nesteroīds pretiekaisuma līdzeklis (NPL), kas tiek izmantots, lai ārstētu sāpes, drudzi un iekaisumu. Ibuprofēns ir iekļauts Pasaules Veselības organizācijas Svarīgo medikamentu sarakstā (angl., *WHO Model lists of essential medicines*), kurā apkopoti nepieciešamie medikamenti pamata veselības aprūpes nodrošināšanai. Ibuprofēns pirmo reizi tika sintezēts 1962. gadā, un sākotnēji tas tika izmantots reimatiskā artrīta ārstēšanai.

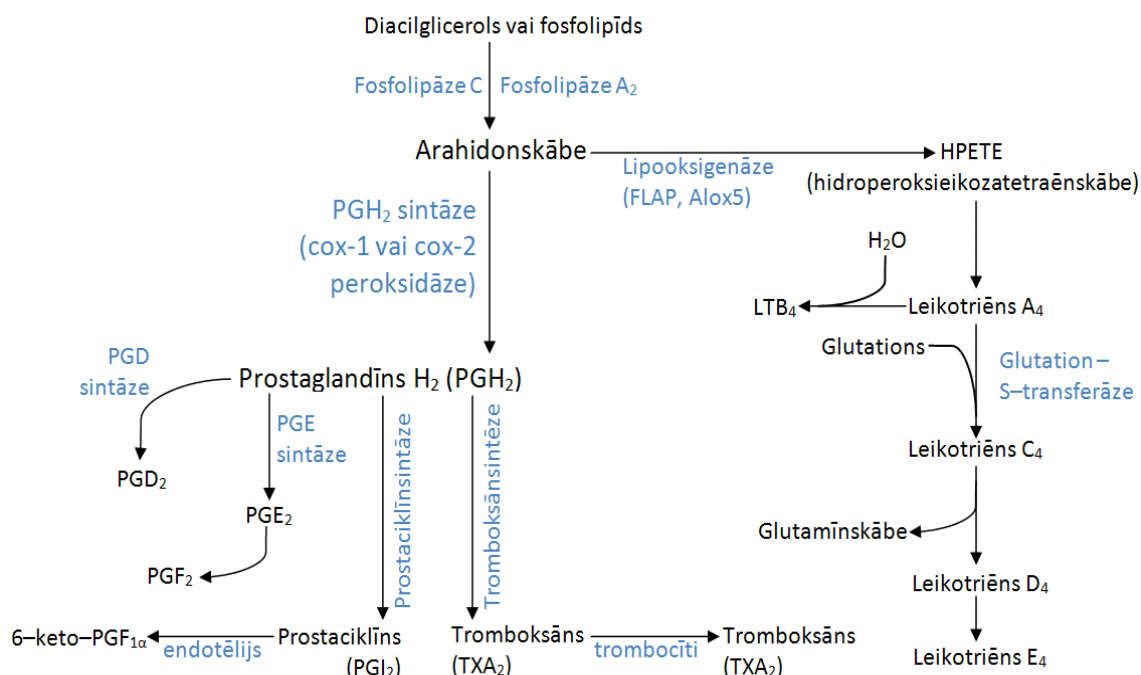
Klīniskie pētījumi, piemēram, *PAIN study* [Moore et al., 1999] pierādīja, ka IBF, salīdzinot ar citiem neselektīviem NPL, ir labi panesams, ar zemu blakusparādību rašanās risku un drošs pediatrijas praksē [Southey et al., 2009; Pierce et al., 2010].

Ibuprofēns ir propionskābes atvasinājums, un pēc darbības mehānisma t. i. neselektīvs ciklooksigenāzes 1 un 2 (COX-1, COX-2) un 5-lipoksigenāzes (LOX) inhibitors. Arahidonskābe, atbrīvojoties no šūnu fosfolipīdu molekulas ar fosfolipāzes A₂ dalību, tālāk tiek šķelta ar COX un LOX, attiecīgi līdz prostanoīdiem un leukotriēniem. COX-1 darbojas pastāvīgi normālos fizioloģiskos apstākļos. COX-2, no otras puses, tiek ekspresēts, galvenokārt makrofāgos, sinoviocītos, fibroblastos, asinsvadu gludajā muskulatūrā, hondrocītos un endoteliālajās šūnās.pēc stimulācijas ar iekaisuma citokīniem, augšanas faktoriem vai endotoksīniem. COX-2 ir iesaistīts mediatoru ražošanā, to skaitā PGE₂, kas rada sāpes, eksudāciju, iekaisumu un drudzi.

Vairāki pētījumi apstiprina saistību starp paaugstinātu COX-2 ekspresiju dažādu audzēju šūnās un sliktu klīnisku iznākumu, un nepieciešamību lietot COX-2 inhibitorus, lai uzlabotu izdzīvošanu vēža gadījumā [Kirshenbaum *et al.*, 2001; Crosby *et al.*, 2003; Denkert *et al.*, 2003; Milella *et al.*, 2004; Khor *et al.*, 2007].

Ibuprofēns ir racēmisks maisījums, kurš sastāv no diviem enantiomēriem R (-) un S (+). Klīniskā efektivitāte vairāk saistīta ar S (+) enantiomēru, kaut gan ar R (-) saista dažas pretiekaisuma īpašības. Ibuprofēna biopieejamība ir 80% un maksimālā koncentrācija plazmā tiek sasniegta pēc 1–2 stundām. Uzņemot IBF kopā ar uzturu, tā absorbcija var samazināties, lai gan daži produkti vai dzērieni, piemēram, koka-kola tā absorbciju palielina [Kondal *et al.*, 2003]. Pēc IBF ieņemšanas 40–60% izomēra R (-) metabolizējas zarnu traktā un aknās, un, pateicoties 2-arilpropionil-KoA epimerāzei, pārvēršas par S (+) izomēru. Ibuprofēna 90–99% saistās ar plazmas ALB, bet caur asins un smadzeņu barjeru tas pārvietojas nesaistītā veidā. Parastā IBF dienas deva ir 200–400 mg [Evans, 2001].

Vairākos pētījumos pierādīta IBF neiroprotektīvā darbība Alcheimera slimības gadījumā, spēja mazināt prostatas, krūts un resnās zarnas ļaundabīgo audzēju attīstību, kā arī mukoviscidozes attīstību plaušu slimniekiem u. c. [Konstan, 1995; Lambat *et al.*, 2000; Dokmeci, 2004; Lands, 2005]. Ibuprofēns stimulē resnās zarnas vēža šūnās HCT116 tumora nekrozes faktora (TNF) apoptozi – inducējoša liganda (TRAIL) citocidālo efektu [Todo *et al.*, 2013].



1.13. att. Eikozanoīdu biosintēze no arahidonskābes
FLAP – 5-lipoksigenāzes aktivēšanas proteīns; ALOX5 – 5-lipoksigenāzes gēns

Ibuprofēnam piemīt antiradikālas un antioksidatīvas īpašības un spēja pārķert ASF. Tas pasargā bioloģisko membrānu lipīdus no oksidēšanas un sekojoši kavē LPO produktu, piemēram, MDA uzkrāšanos. Vairāki pētījumi parādījuši, ka IBF spēj pārķert hidroksilradikāli un superoksīda radikāli un tam piemīt radioprotektīvas īpašības [Akpolat *et al.*, 2011].

Ibuprofēna fizikāli ķīmisko īpašību uzlabošanai tiek sintezēti tā hibrīdi ar AO. Ibuprofēna hibrīds ar antioksidantiem (timols, gvajakola, eugenols, mentols) uzrādīja pretiekaisuma un pretsāpju efektu un neizraisīja gastrointestinālo ulcerāciju. To izskaidro ar AO iedarbību un uzlabotām tā fizikāli ķīmiskām īpašībām. Ibuprofēna hibrīds ar GSH uzrādīja pozitīvu efektu eksperimentālajā modelī ar žurkām, samazinot OS un kognitīvās disfunkcijas ierosinātās Alcheimera slimības gadījumā [Pinnen *et al.*, 2011; Chandiran *et al.*, 2013].

Ņemot vērā šeit minētās IBF īpašības, I un II pētījumā izzinājām IBF un tā kombinētās lietošanas ar AO – Se, VE un KoQ₁₀ – ietekmi uz OS rādītājiem, kā arī onkomarķieriem PSA un CEA Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju asinīs.

1.8.3. Polifenoli

Par PF sauc fenolus, kuru benzola gredzenā ir vairākas hidroksilgrupas. Pašreiz ir zināmi vairāk kā 8000 PF un starp tiem ir identificēti 4000 flavonoīdi. Polifenolus atkarībā no to oglekļa struktūras iedala apakšgrupās: fenolskābes, flavonoīdi un retāk sastopamie ne flavonoīdi – stilbēni un lignāni. Viena no visplašākajām un labāk izpētītajām PF grupām ir flavonoīdi, kuri var būt brīvā vai glikozilētā formā. Atkarībā no ķīmiskās struktūras izšķir sešas flavonoīdu apakšklases: flavonoli, flavoni, flavanoni, izoflavoni, antociānīni, flavanoli jeb flavāntrioli (pie kuriem pieder katehīni un proantociānīdīni). Flavanoli (atšķirībā no pārējiem flavonoīdiem) uztur produktos nav glikozilētā formā [D'Archivio *et al.*, 2007].

Visefektīvākā PF absorbcija notiek tievajā zarnā, sasniedzot maksimumu 1–3 stundas pēc produkta uzņemšanas. Eliminācijas pusperiods ir starp vienu un 18 stundām, un lielākai daļai no tiem < 8 stundām, respektīvi PF metabolizējas diezgan ātri, t. i., dienas laikā. Flavonoīdu koncentrācija plazmā parasti ir < 10 μM, bet stacionārajā stāvoklī – < 1 μM. Izoflavonu, flavonolu un flavanonu biopieejamība ir augstāka nekā antociānīniem. Diezgan labi absorbējas arī fenolskābes un stilbēni. Pēc absorbcijas PF tiek metabolizēti zarnās un aknās par glukuronīdiem un sulfātu konjugātiem, bet pirokatehīni – metilēti. Tiek uzskatīts, ka asins antioksidatīvās kapacitātes palielināšanos pēc flavonoīdiem bagāta uztura lietošanas neizraisa flavonoīdi tiešā veidā, bet šis process saistīts ar urīnskābes, kurai piemīt

antioksidatīvas īpašības, līmeņa palielināšanos [Mitjavila *et al.*, 2012; Tsao, 2010; Weng, 2012].

1.5. tabula

Pārtika un dzērieni, kuri ir bagātīgi ar polifenoliem

[Mitjavila, 2012]

Polifenoli	Koncentrācija mg/kg svaiga produkta svara		
	Zema (200–500)	Vidēja (1000–5000)	Augsta (10000–15000)
Fenolskābes	Cigoriņi, valrieksti	Ogas, šokolāde, kafija	–
Flavanoli	Sarkanvīns, vīnogas, valrieksti	Ogas, tēja, kakao, lazdu rieksti	Ogas, tumšā šokolāde
Flavoni	Olīves, artišoki, cigoriņi	–	–
Antocianīni	Sarkanvīns, plūmes, pupas	Ogas, ķirši, olīves	Ogas
Izoflavonoīdi	–	Sojas pupiņu produkti	–
Stilbēni	Sarkanās vīnogas sarkanvīns, zemesrieksti	–	–
Lignāni	–	Linsēklas	Sezama eļļa

Pateicoties antioksidatīvām, antialerģiskām, pretiekaisuma, pretmikrobu un pretvēža īpašībām un spējai modulēt signālu pārnesei ceļus (piemēram, kvercetīns, atbildot uz OS, aktivē MAPK), PF spēlē kardinālu lomu daudzu ar OS saistītu slimību kavēšanā – vēža, sirds un asinsvadu un neirodeģeneratīvo saslimšanu, kā arī CD.

Zaļās tējas spējas preventēt vēža attīstību saista gan ar tās AO, gan prooksidatīvajām īpašībām. Pēc literatūras datiem redzams, ka visvairāk ZT polifenoli producē ASF indivīdiem ar zemu sākotnējo OS līmeni, savukārt indivīdiem ar augstu sākotnējo OS līmeni ZT polifenoli var pārķert ASF. Flavanoīdi inducē, tā saucamos II fāzes fermentus, kas palīdz likvidēt mutagēnus un kancerogēnus [Forester *et al.*, 2011].

Kohortas pētījumos konstatēts, ka, lietojot uzturā augļus un ogas, kas satur daudz antocianīnu, sevišķi mellenes, vīnogas, ābolus un bumbierus, pazeminās risks saslimt ar 2TCD. Citos pētījumos konstatēts, ka flavanoīdi var samazināt glikēmiju un uzlabot insulīna sekrēciju un jutību. Pētījumi ar dzīvniekiem ir pierādījuši, ka antocianīna apakšklasēm piederīgo produktu lietošana uzlabo glikozes metabolismu, insulīna rezistenci un novērš β šūnu disfunkciju, regulējot GLUT [Wedick *et al.*, 2012; Murako *et al.*, 2013]. Izolēts (-)-epikatehīns vai flavanoliem bagāta diēta uzlabo asinsvadu endotēlija funkcijas, modulējot NO[•] metabolismu un NADPH oksidāzes aktivitāti [Schewe *et al.*, 2008].

Tādējādi pateicoties AO īpašībām, PF spēj neitralizēt ASF un līdz ar to regulēt OS, kas iekļauts vairuma slimību patoģenēzē, to skaitā CD. Perspektīva pieeja hiperglikēmijas un tās

izraisīto komplikāciju mazināšanai varētu būt kombinēta PF lietošana ar cukura līmeni pazeminošiem preparātiem. Turklāt dabisko AO lietošana – *Ginkgo biloba* un zaļās tējas – var palīdzēt uzturēt adekvātu antioksidatīvo statusu organismā un koriģēt OS.

Zaļā tēja (*Camellia sinensis* L.) jau izsenis slavena ar tās labvēlīgo ietekmi uz cilvēka veselību. Zaļās tējas sastāvā esošā katehīnu grupa satur astoņus PF flavonoīdu savienojumus: (+) katehīns (C), (–) epikatehīns (EC), (+) galloKatehīns (GC), (–) epigallo katehīns (EGC), (+) katehīnagallāts (CG), (–) epikatehīnagallāts (ECG), (+) gallo katehīna gallāts (GCG) un (–) epigallokatehīnagallāts (EGCG). Visizplatītākais flavonoīdu savienojums ir EGCG, kas nodrošina ZT bioloģisko aktivitāti.

Polifenoliem ir divējāda antioksidatīvā aktivitāte, ietekmējot patoloģiskos procesus – tiešā un netiešā [Mitjavila et al., 2012]. Tiešā aktivitāte saistās ar katehīnu spēju pārķert superoksīdradikāli un hidroksilradikāli [Kashima, 1999; Nanjo et al., 1999; Zhao et al., 2001], peroksilradikāli [Sang et al., 2003], NO [Kelly, 2001], singleta oksīdu, lipīdu brīvos radikāļus [Guo et al., 1996; Zhao et al., 2001] un kavēt peroksinitrīta veidošanos [Pannala et al., 1997]. Katehīni spēj pārķert ASF, veidojot stabilus semihinonu brīvos radikāļus, tādējādi kavējot brīvo radikāļu dezaminēšanās spēju. Katehīnu spēju inhibēt ASF uzkrāšanos izskaidro ar ksantīnoksidāzes aktivitātes nomākšanu. Ksantīnoksidāze ir ferments, kas katabolizē purīnus līdz urīnskābei un ASF. Turklāt EGCG ksantīnoksidāzi inhibē ar tādu pašu spēju kā allopurinols, ko izmanto podagras terapijā [Aucamp et al., 1997]. Katehīni spēj helatēt metāla jonus – varu (II) un dzelzi (III), tādējādi kavējot turpmāko potenciāli bīstamu brīvo radikāļu veidošanos [Kanwar et al., 2012; Grinberg et al., 1997]. Katehīni ļoti ātri spēj pārnest elektronu uz ASF izraisītu radikāļa vietu DNS molekulā [Anderson, 2001].

Pēc katehīnu oksidēšanās reakcijās ar brīvajiem radikāļiem veidojas dimerizēts produkts, kam piemīt liela spēja superoksīda pārķeršanā un dzelzs helatēšanā [Sutherland et al., 2006].

Polifenolu netiešā ietekme saistās galvenokārt ar šūnu signālu pārneses ceļiem un gēnu ekspresiju, aizsardzības sistēmas enzīmu modulēšanu un izmaiņām kodola histona acetilēšanā. Polifenoli var kavēt ASF veidošanos, palielinot antioksidatīvo fermentu – SOD, KAT un GPx – aktivitātes un to ekspresiju [Lambert et al., 2010], kā arī var tieši kavēt ar LPO saistīto endogēno AO – VE un β -karotīna –samazināšanos [Lotito et al., 2000].

Zaļās tējas PF ir izrādījuši AO efektivitāti ne tikai *in vitro* pētījumos, bet arī *in vivo*. Klīniskajā pētījumā tika noskaidrots, ka ZT ekstrakta lietošana palielināja plazmas antioksidatīvo aktivitāti un sekojoši samazināja oksidatīvos bojājumus [Sutherland et al., 2006]. Ir virkne pētījumu, kuros konstatēta TAS palielināšanās pēc ZT lietošanas veseliem cilvēkiem [Benzie et al., 1999; Leenen et al., 2000; Sung et al., 2000; Erba et al., 2005].

Turpretī ir pētījums, kurā četru nedēļu viena litra ZT lietošana 34 praktiski veseliem cilvēkiem nemainīja TAS, bet samazināja MDA un 4-HNE līmeni serumā [Coimbra, 2006].

Salīdzinot ZT PF uzņemšanu dzēriena (697,1 mg/d.) vai kapsulu (461,9 mg/d.) veidā, konstatēts, ka AO kapacitāte (TEAC – *Trolox equivalent antioxidant capacity*) vairāk pieaug, lietojot kapsulas. To izskaidro ar atšķirīgo farmakokinētiku, jo ZT esošie PF lēnāk metabolizējas, nekā kapsulās esošie [Henning et al., 2004].

Zaļās tējas PF, palielinot plazmas AO aktivitāti, var arī nomākt OS rādītājus – MDA, 4-HNE, 8-hidroksideoksiguanozīnu (8-OHdG), proteīnkarbonilus (PK) [Coimbra, 2006; Hakim, 2003; Tsai, 2013]. Arī pētījumu modeļos ar dzīvniekiem pierādīts, ka piecu nedēļu ZT lietošana palielina endogēno antioksidantu – GPx un GR – aktivitātes, GSH daudzumu un samazina LOOH, 4-HNE un MDA daudzumus [Skrzydowska et al., 2002]. Zaļās tējas komponents EGCG palielina AO enzīmu aktivitāti un TAS līmeni vecām žurkām [Kumaran, 2008]. Turpretī citā pētījumā ar streptozotocīna diabētiskām žurkām iegūti pretēji dati par AO enzīmiem [Babu, 2006]. Streptozotocīna diabētiskām žurkām katehīni (35 mg/d. pēc 12 ned.) izrāda renoprotektīvas īpašības, samazinot urinārā ALB ekskrēciju un plazmas kreatinīna, endotelīna 1 koncentrāciju, lipīdu peroksidāciju, alanīntransferāzes un fibronektīna ekspresiju, paaugstinot -SH grupu koncentrāciju [Chennasamudrama et al., 2012].

Ginkgo biloba (GB) ir izmantota tradicionālajā ķīniešu medicīnā 5000 gadu. *Ginkgo biloba* lapu standartizētais preparāts EGb 761 satur 24% flavonoīdglukozīdu, 6% terpēnlaktonu (ginkolīdus un bilobalīdus). EGb 761 tiek izmantots dažādiem ārstniecības mērķiem, piemēram, smadzeņu mazspējas un perifēro asinsvadu slimību gadījumos; vecuma izraisītu atmiņas, redzes, dzirdes un hronisku smadzeņu asinsrites traucējumu, veģetatīvās asinsvadu distonijas, galvas smadzeņu asinsvadu aterosklerozes, galvaskausa un smadzeņu traumu; galvassāpju un migrēnas, pēcinsulta rehabilitācijas varikozas vēnu paplašināšanās, tromboflebīta, hemoroīdu, impotences un diabētiskās angiopātijas gadījumos.

Eksperimentālajos pētījumos ar dzīvniekiem parādīts, ka EGb 761 var:

- 1) pārķert brīvos radikāļus;
- 2) kavēt LPO;
- 3) saglabāt ATP saturu, aizsargājot Mth elpošanas ķēdi, un pret oksidatīvās fosforilēšanas atjūgšanu;
- 4) izraisīt artēriju un vēnu vazoregulatoru efektu, iesaistot endoteliālos faktorus un kateholamīnerģisko sistēmu;
- 5) regulēt jonu līdzsvaru bojātās šūnās un izrādīt īpašu un stipru trombocītu aktivēšanas faktora antagonista aktivitāti;

6) kavēt vai samazināt funkcionālos tīklenes traucējumus, kas rodas no išēmijas – reperfūzijas, fotodeģenerācijas, diabētiskās vai proliferatīvās retinopātijas.

Klīniskajos pētījumos EGb 761 terapija rāda efektivitāti dažādu smadzeņu funkciju traucējumu gadījumos; palielina kognitīvās funkcijas, vecāka gadu gājuma cilvēkiem ļauj vieglāk tikt galā ar ikdienas stresu, ko izskaidro ar EGb 761 spēju atvieglot uzvedības adaptēšanos stresam un samazināt kortizola atbrīvošanos stresa situācijās; noder arī, ārstējot redzes funkcionālos traucējumus un redzes lauka bojājumus, kas saistīti ar hronisku cerebrovaskulāro nepietiekamību, vecuma izraisīto makulāro deģenerāciju un CD. EGb 761 pozitīvu efektu deva, kavējot Alcheimera slimības progresēšanu. EGb 761 sastāvā esošajiem ginkgolīdiem piemīt antistresa aktivitāte līdzīgi kā benzodiazepīnam, bet bilobalīdi atbild par ATP veidošanos Mth, flavonglikozīdi ir atbildīgi par antioksidatīvo aktivitāti [Kleinjen et al., 1992; Clostre, 2000; DeFeudis et al., 2000].

Klīniskajā pētījumā trīs mēnešu ilga EGb 761 lietošana būtiski samazināja MDA eritrocitārajās membrānās un fibrinogēna līmeni, veicināja eritrocītu plūstamību, uzlaboja asins viskozitāti un viskoelastību, kas atviegloja asins perfūziju. Turklāt EGb 761 efektīvi var uzlabot tīklenes kapilāru asins plūsmas ātrumu 2TCD pacientiem ar retinopātiju. Streptozotocīna diabētiskām žurkām EGb 761 lietošana palielināja GSH līmeni un samazināja cukura līmeni tukšā dūšā [Huang et al., 2004; Shankar et al., 2005], kā arī samazināja SOD aktivitāti nierēs no 163% līdz 46% [Welt et al., 2007].

Ginkgo biloba var vienlaikus lietot ar standartterapijā nozīmēto metformīnu. Tika izpētīts, ka vienlaicīga metformīna (500 mg) un EGb 761 (120 mg) lietošana trīs mēnešu laikā būtiski neietekmē metformīna farmakokinētiskās īpašības [Kudolo et al., 2006].

Nemot vērā, ka daudzie pētījumu dati par ZT un EGb 761 antioksidatīvajām īpašībām un ietekmi uz OS ir pretrunīgi un to aktīvo vielu darbības mehānisms līdz galam nav noskaidrots, pētījumā ar 2TCD pacientiem vēlējāmies noskaidrot komerciāli pieejamo preparātu (nod. 2.1.1.) *Ginkgo biloba*, *Camellia sinensis* un kombinētā preparāta *Grinvital Cereloba Plus* ietekmi uz OS un AO rādītāju izmaiņām 18 mēnešu garumā un salīdzināt ar *Placebo* pacientu grupu.

1.8.4. Dažādu preparātu ietekme uz jonizējošā starojuma seku mazināšanu organismā un prostatas vēža preventēšanu

Pamatojoties uz daudziem publicētajiem datiem, var konstatēt, ka AO neitralizē ASF un kavē iekaisuma reakcijas, un tā kā šie abi procesi ieņem galveno lomu radiācijas izraisīto bojājumu veicināšanā, tad AO pielietojums pēcradiācijas periodā varētu būt par pamatu OS

koriģēšanā un slimību preventēšanā, tajā skaitā onkoģenēzē. Literatūras dati par AO lietošanu pērcradiācijas periodā un prostatas onkoģenēzē ir pretrunīgi, un daudzi mehānismi ir nepilnīgi izskaidroti. Nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi kontrolē iekaisuma reakcijas, kuras bojā audus ar oksidantiem. Nesteroīdo pretiekaisuma līdzekļu spēja mazināt saslimšanas risku ar vēzi, iespējams, saistīta ar COX enzīma aktivitātes kavēšanu, kā arī ar citiem to bioloģiskiem efektiem, piemēram, ASF veidošanos un NF-kB-pastarpināto signālu kavēšanu. Viens no NPL ir IBF, kuru klīnikā izmanto diezgan ilgi, un tā efektivitāte, drošība un blaknes ir atzītas, un tāpēc t. i. drošs lietošanai.

Literatūras dati par Se nozīmi prostatas vēža attīstībā ir pretrunīgi. Konstatēts, ka zems Se līmenis nav saistīts ar prostatas vēža attīstību [Helzsouer *et al.*, 2000; Goodman *et al.*, 2001; Allen *et al.*, 2008], bet citi pētnieki norāda uz tā ciešo saistību ar šo saslimšanu [Brinkman, 2006; Brooks *et al.*, 2001; Nomura *et al.*, 2000; Van den Brandt *et al.*, 2003]. Pētījumā ar cilvēka limfocītiem *in vitro* pierādīts, ka Se^{4+} efektīvi inhibē aflatoksīna (hepatoksisks, karcinogēns, mutagēns, teratogēniskais) ierosināto māshromosomu apmaiņu [Lokman, 2001].

Selēns paaugstina GPx, KAT, GSH līmeni normālās šūnās, bet ne dažu audzēju šūnās (piemēram, leukēmijas), Se kavē radiācijas izraisīto transformāciju [Borek *et al.*, 1986] un var stimulēt DNS reparāciju šūnās ar p53 (normālās šūnas). Selēns inducē apoptozi prostatas vēža šūnās un aizsargā normālos cilvēka fibroblastus no vienas vai vairāku starojumu devas, bet ne plakanšūnu karcinomas šūnas [Rodemann *et al.*, 1999]. Organiskais Se, darbojoties kā radioprotektors, ātri atjauno asins AO aizsardzību žurkām pēc apstarošanas ar γ -stariem [Jozanov-Stankov *et al.*, 1998], samazina saslimšanas gadījumus pelēm ar krūšu dziedzeru vēzi [Ip *et al.*, 1994].

The *Nutritional prevention of cancer* (NPC) randomizētajā pētījumā konstatēts, ka lietojot rauga-Se 200 $\mu\text{g}/\text{d.}$, būtiski samazinās saslimšana ar vēzi, bet 400 $\mu\text{g}/\text{d.}$ neietekmēja kopējo saslimstības biežumu ar vēzi [Reid *et al.*, 2008].

Līdzīgi Se var darboties VE sinerģiskā veidā šūnu aizsardzībā pret radiācijas izraisītām izmaiņām. Pierādīts, ka VE samazina radiācijas izraisītos hromosomu bojājumus cilvēka vēža šūnās, bet ne normālās šūnās. Kombinētā VE un C vitamīna (VC) terapija kavē apoptozi cilvēka endotēlija šūnās efektīvāk nekā katrs vitamīns atsevišķi, tajā pašā laikā palielinot Bcl-2 un nomācot proapoptisko Bax [Haendeler *et al.*, 1996]. Savukārt VE inducē cilvēka krūts un prostatas vēža šūnās apoptozi, kā arī leukēmiskās [Singounas *et al.*, 1997] un glioblastomas šūnās [Borek *et al.*, 2004]. Pētot VE, VC un β -karotīna radioprotektīvo darbību pirms un pēc 2 Gy gamma starojuma izraisītajām mutācijām DNS cilvēka limfocītos *in vitro*, konstatēja, ka radioprotektīvā iedarbība ir gan pirms, gan pēc

vitamīnu lietošanas, kaut gan lielāka aizsardzība novērota, ja vitamīni doti ne vēlāk kā vienu stundu pēc apstarošanas. C vitamīns bija efektīvs koncentrācijā zem 1 µg/ml, VE – koncentrācijā virs 2 µg/ml, bet β-karotīns visās dotajās koncentrācijās, t. i., 1–5 µg/ml. Netika novērota radiācijas izraisītā citotoksicitātes novēršana [Konopacka et al., 2001].

CBA līnijas pelēm nenovēroja TAS pazemināšanos, ja pirms to pakļaušanas 50 cGy radiācijai no galatiskā kosmiskā starojuma (GKS) augstas enerģijas daļiņām vai 3 Gy lielai radiācijai no protoniem vai γ stariem, uzturu papildināja ar N-acetilcisteīnu, Na-askorbātu, KoQ₁₀, α-lipoiskābi, L-Se-Met un VE-sukcinātu [Guan et al., 2006]. Tiek uzskatīts, ka GKS smagie joni, sevišķi Fe⁺²⁶, izraisa vislielākos bojājumus bioloģiskās struktūrās. Tika pierādīts, ka Se-Met spēj samazināt delzs jonu radiācijas izraisītās transformācijas cilvēku vairogdziedzera epitēlijšūnās [Kennedy et al., 2006; Nuth et al., 2013].

Pelēm, kuras saņēma 3 Gy lielu starojumu, sintētiskais ubihinons kā terapeitiskais līdzeklis (2 and 10 mg/kg) normalizēja eritrocītu, retikulocītu un leukocītu skaitu, hemoglobīna līmeni asinīs un inhibēja LPO eritrocītos [Koryagin et al., 2002].

Veseli vīrieši (1. grupa) saņēma *per os* Se (200 µg/d. L-selēnmetionīna formā) un VE *placebo*, otrās pētījuma grupas vīriešiem tika izrakstīts VE (400 IU/d. rac-α-tokoferila acetāts) un atbilstoši Se *placebo*, trešajai grupai attiecīgi – Se un VE, ceturtajai – abi preparāti *placebo* formā (*placebo* + *placebo*). Plānotā pēcpārbaude – minimums septiņus gadus, bet ne vairāk kā 12 gadus. Rezultātā konstatēts statistiski nenoīmīgs prostatas vēža risks VE grupā (p = 0,06) un arī 2TCD Se grupā (relatīvais risks 1,07; 99% TI, 0,94–1,22; p = 0,16), bet risks nepastāv Se un VE kombinētajā grupā. Tādējādi Se, VE vai abu kombinācija, tajā skaitā devu izmaiņas, nenovērš prostatas vēzi šajā populācijā relatīvi veseliem vīriešiem

Daži pētījumi liecina, ka IBF ir spēcīgāka pretvēža zāļu iedarbība nekā aspirīnam, jo īpaši krūts un plaušu vēža gadījumā. Pārmērīga COX-2 ekspresija un paaugstinātu prostaglandīnu biosintēze korelē ar kanceroģenēzi un metastāzēm lielākajā daļā anatomisko vietu. Šis pārskats sniedz pārlicinošus pierādījumus, ka regulāra neselektīvo NPL uzņemšana bloķē COX-2 un aizsargā pret vairāku vēža veidu attīstību [Harris et al., 2005]. Ibuprofēns izrādīja radioprotektora īpašības kāmjū tievo zarnu bojājumu mazināšanai pēc 8 Gy radiācijas saņemšanas [Akpola et al., 2011].

Koenzīma Q₁₀ lietošana par papildterapiju tika izmantota galvenokārt sirds un asinsvadu slimību gadījumā, jo starp sirds mazspēju un zemu KoQ₁₀ līmeni pastāv korelācija.

Zviedrijā 4,5 gadu ilgs pētījums parādīja, ka personām vecumā no 70 līdz 88 gadiem, lietojot 48 mēn. ik dienu pa 200 mg Se un divreiz pa 100 mg KoQ₁₀, samazinājās mirstība no sirds un asinsvadu slimībām. Pozitīvs efekts rezams arī NT-proBNP un ehogrāfijas radītājos [Alehagen et al., 2012].

Pētījumu dati par KoQ₁₀ efektivitāti uz prostatas vēža attīstību *in vivo* un *in vitro* ir pretrunīgi. Ir publicēti daži klīniskie pētījumi par KoQ₁₀ lietošanu prostatas vēža pacientiem: KoQ₁₀ (200 mg/d. 12 ned.) kopā ar 3-ķ samazināja PSA līmeni [Safarinejad *et al.*, 2012]. Uztura bagātinātājs, kas saturēja VE, Se, VC un KoQ₁₀ 21 nedēļas laikā neietekmēja PSA rādītāju [Hoenjet *et al.*, 2005]. Kombinēta KoQ₁₀ lietošana ar VC, Se, folskābi un β-karotīnu paildzināja dzīvildzi pacientiem ar progresīvu prostatas vēzi [Hertz *et al.*, 2009]. Pētījumā *in vitro* ar cilvēka prostatas vēža PC3 un labdabīgo vēža šūnu PNT2 līnijām, konstatēja, ka KoQ₁₀ kavēja šūnu augšanu PC3 līnijas šūnās [Quiles *et al.*, 2003]. Normālās cilvēka ādas fibroblastu šūnu kultūrās KoQ₁₀ nomāc ultravioleto staru un IL-1 ierosinātās iekaisuma reakcijas [Fuller *et al.*, 2006]. Apstarotām žurkām pēc cerebrālās išēmijas / reperfūzijas izraisītiem bojājumiem KoQ₁₀ kā AO izrāda pretiekaisuma darbību [Abd-El-Fattah *et al.*, 2010].

2. MATERIĀLS UN METODES

2.1. Materiāls

Promocijas darbā izvērtēti četri pētījumi:

I pētījums – “Ibuprofēna kombinētas lietošanas ar E vitamīnu un selēnu ietekme uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem”;

II pētījums – “Ibuprofēna kombinētas lietošanas ar selēnu un koenzīmu Q₁₀ ietekme uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem”;

III pētījums – “Dažu polifenolus saturošu preparātu dažādu devu ilgstošas lietošanas efektivitāte uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām 2TCD pacientiem”;

IV pētījums – “Oksidatīvā stresa rādītāju atšķirības Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar un bez 2TCD”.

Bioķīmiskās analīzes veiktas sertificētā RSU Bioķīmijas laboratorijā (Veselības aprūpes iestāžu, uzņēmumu un prakšu reģistra Nr. 0100-19100; LR Veselības ministrijas sertifikāta Nr. L-198-A).

2.1.1. Ētiskie aspekti

Pētījumi saskaņoti ar RSU Ētikas komiteju (lēmumi 05.01.2005. un 11.03.2005. 1., 2. pielik.). Katrs pētījuma dalībnieks tika iepazīstināts ar pētījumu (“Informācija pacientam”, 3., 4. pielik.) un sniedza rakstisku piekrišanu (“Vienošanās protokols un informētības apstiprinājums”, 5. pielik.). III pētījums veikts sadarbībā ar Kauņas Medicīnas universitātes Endokrinoloģijas klīniku un Lietuvas Veselības zinātņu universitātes Kauņas klīniku EUREKA projekta Nr. E!3695 *Antioksidiaabet* ietvaros un tā īstenošana saskaņota ar Kauņas reģionālās biomedicīnas pētījumu Ētikas komiteju (atzinums 2009-04-15, Nr. BE 2-5, 6. pielik.).

2.1.2. I pētījuma dizains

Pētījums: randomizēts, dubultaklais *placebo* kontrolētais, veikts 2005.–2006. g.

Dalībnieki: Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji, kuri piedalījušies Černobiļas avārijas seku likvidēšanas darbos 1986.–1989. g. un saņēmuši ne vairāk kā 200 mSV ($135,72 \pm 68,81$, vid. $\pm$ SD) radiācijas starojuma, skaits – 82, dzimums – vīrieši, vecums 38–55 gadi ($49,9 \pm 5,6$, vid. $\pm$ SD).

Izslēgšanas faktori: alkoholisms, HIV / AIDS, tuberkuloze, akūtas / hroniskas infekcijas slimības, smagas kardiovaskulāras un cerebrovaskulāras slimības, psihiskas saslimšanas.

Preparāti:

- selēnmetionīns (Se-Met) – patentēts rauga selēns (EP Patent Nr 1 478 732 B1), ko satur “SelenoPrecise” (*Pharma Nord*, Dānija); viena tablete – 200 µg vienu reizi dienā;
- E vitamīns (d, α-tokoferols), ko satur “Bio-E-Vitamin” (*Pharma Nord*, Dānija): viena kapsula – 350 mg, vienu reizi dienā;
- ibuprofēns (a/s “Olainfarm”, Latvija): viena tablete – 200 mg divas reizes dienā;
- placebo – selēns, E vitamīns, ibuprofēns (a/s “Olainfarm”, Latvija).

2.1. tabula

Preparāti un pētījuma dalībnieku sadalījums pa grupām

Grupa	Selēnmetionīns	E vitamīns	Ibuprofēns
Se + VE (N = 21)	200 µg, viena tablete no rīta	350 mg, viena kapsula no rīta	Placebo, viena tablete no rīta
IBF (N = 20)	Placebo, viena tablete no rīta	Placebo, viena kapsula no rīta	200 mg, viena tablete no rīta un vakarā
Se + VE+ IBF (N = 21)	200 µg, viena tablete no rīta	350 mg, viena kapsula no rīta	200 mg, viena tablete no rīta un vakarā
Placebo (N = 20)	Placebo, viena tablete no rīta	Placebo, viena kapsula no rīta	Placebo, viena tablete no rīta un vakarā

Paraugu savākšana: P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas (KUS) Aroda un radiācijas medicīnas centrā pētījuma dalībniekiem tika paņemtas venozās asinis pētījuma sākumā, pēc trim, sešiem un 12 mēnešiem un noteikti šādi rādītāji: selēns (Se), E vitamīns (VE), totālais antioksidantu statuss (TAS), TBS_MDA (ar tiobarbitūrskābi reaģētspējīgie savienojumi), plazmas hemiluminiscence. *Randox Laboratories, Ltd.* (AK) tika veiktas šādas analīzes: karcinoembriālais antigēns (CEA), kopējais prostatas specifiskais antigēns (PSA), brīvais PSA.

Pētījuma laikā tā dalībniekus novēroja ārsti un dinamiskā nopietnas novirzes netika konstatētas.

Pētījuma zinātniskais konsultants: Šefīldas Helama (*Hallam*) universitātes Biomedicīnas pētījuma centra emirētais biomedicīnas zinātņu profesors K. D. Rainsfords (AK).

Finansiālais atbalsts:

Boots Healthcare, Ltd. (AK) finansēts pilotprojekts “Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju pašreizējais veselības stāvoklis, tā iespējamā korekcija, izmantojot selēna metionīnu, E vitamīnu un nesteroīdo pretiekaisuma līdzekli – ibuprofēnu” (2005.–2006. g.).

IZM projekts “Zinātniskās infrastruktūras nodrošināšanas un attīstības augstskolās” finansēts ilglaicīgs pētījums “Antioksidantu un ibuprofēna ietekme uz prostatīta attīstības risku Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem” (2006.–2007. g.).

2.1.3. II pētījuma dizains

Pētījums: randomizēts, dubultaklais pētījums, veikts 2008.–2009. g.

Dalībnieki: Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji, kuri piedalījušies Černobiļas avārijas seku likvidēšanas darbos 1986.–1989. g. un saņēmuši ne vairāk kā 200 mSV ($135,72 \pm 68,81$, vid. $\pm$ SD) radiācijas starojuma, skaits – 75, dzimums – vīrieši, vecums 45–57 gadi ($51,0 \pm 6,0$, vid. $\pm$ SD).

Izslēgšanas faktori: alkoholisms, HIV / AIDS, tuberkuloze, akūtas / hroniskas infekcijas slimības, smagas kardiovaskulāras un cerebrovaskulāras slimības, psihiskas saslimšanas.

Preparāti:

- selēnmetionīns (Se-Met) – patentēts rauga selēns (*EP Patent No 1 478 732 B1*), ko satur “SelenoPrecise” (*Pharma Nord*, Dānija): viena tablete 200 µg, vienu reizi dienā;
- koenzīms Q₁₀ (ubihinols) (*Pharma Nord*, Dānija): viena kapsula – 100 mg, vienu reizi dienā;
- ibuprofēns (a/s “Olainfarm”, Latvija): viena tablete – 200 mg, divas reizes dienā;
- omeprazols (a/s “Olainfarm”, Latvija): viena tablete – 20 mg vienu reizi dienā.

2.2. tabula

Preparāti un pētījuma dalībnieku sadalījums pa grupām

Grupa	Selēnmetionīns	Koenzīms Q ₁₀	Ibuprofēns	Omeprazols
Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om (N = 25)	200 µg, viena tablete no rīta	100 mg, viena kapsula no rīta	200 mg, viena tablete no rīta un viena vakarā	20 mg, viena tablete no rīta
Se + KoQ ₁₀ (N = 25)	200 µg, viena tablete no rīta	100 mg, viena kapsula no rīta	Nav	Nav
KoQ ₁₀ + IBF + Om (N = 25)	Nav	100 mg, viena kapsula no rīta	200 mg, viena tablete no rīta un viena vakarā	20 mg, viena tablete no rīta

Paraugu savākšana: P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centrā pētījuma dalībniekiem tika paņemtas venozās asinis pētījuma sākumā, pēc trim un sešiem mēnešiem. Pētījuma sākumā (0 mēn.) un beigās (6. mēn.) noteikti šādi rādītāji: Cu, Zn-SOD un GPx aktivitātes, VE, malondialdehīds (MDA) un 4-hidroksinonenāls (4-HNE). Pētījuma sākumā (0 mēn.), pēc trim un sešiem mēnešiem tika noteikti šādi rādītāji: Se, reducētais glutations (GSH), triglicerīdi (TRG), holesterīns (HOL), zema blīvuma lipoproteīdi (ZBL), augsta blīvuma lipoproteīdi (ABL), albumīns (ALB). *Randox Laboratories, Ltd.* (AK) tika veiktas šādas analīzes: CEA, kopējais PSA, brīvais PSA.

Pētījuma laikā tā dalībniekus novēroja ārsti un dinamiskā nopietnas novirzes netika konstatētas.

Pētījuma zinātniskais konsultants: Šefīldas Helama (*Hallam*) universitātes Biomedicīnas pētījuma centra emirētais biomedicīnas zinātņu profesors K. D. Rainsfords (AK).

Finansiālais atbalsts: IZM programma “Latvijas iedzīvotāju veselības apdraudošo eksogēno un endogēno faktoru izpēte” grants: “Antioksidantu un ibuprofēna ietekme uz prostatīta attīstības risku Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem” (2007.– 2009. g.).

2.1.4. III pētījuma dizains

Pētījums: randomizēts, dubultaklais *placebo* kontrolētais, veikts 2009.–2011. g.

Dalībnieki: pacienti no Kauņas Medicīnas universitātes Endokrinoloģijas klīnikas un Lietuvas Veselības zinātņu universitātes Kauņas klīnikas ar diabēta izraisītu retinopātiju, nefropātiju vai neiropātiju attīstību. Abi dzimumi.

Izslēgšanas faktori: iekļauj $HbA1c > 13\%$, ķermeņa masas indekss $> 45 \text{ kg/m}^2$, nekontrolētas hipertensijas vēsture, citas nozīmīgas medicīniskās problēmas (kardiovaskulārās, aknu, endokrīnās saslimšanas), paaugstināta jutība pret pētījumā iekļautajiem preparātiem, nespēja ievērot pētījuma protokolu.

Preparāti: kopā ar terapijā lietotiem medikamentiem – metformīnu un insulīnu – tika lietoti šādi preparāti:

- *Ginkgo Biloba* lapu standartizēts sausais ekstrakts (GB) (a/s “Aconitum”, Lietuva): 80 mg EGb satur 19,2 mg ginkgo flavonglikozīdus un 4,8 mg terpēnlaktonus – ginkolīdi, bilobalīdi);
- zaļās tējas – *Camellia sinensis* standartizēts lapu ekstrakts (ZT) (a/s “Sanitas”, Lietuva): 200 mg ECs (75% polifenoli);
- *Grinvitals Cerebola plus* (GV) (a/s “Grindeks”, Latvija)

1 tablete (37,5 mg EGb – (flavonglikozīdi 9 mg, terpēnlaktoni 2,2 mg), 37,5 mg ECs (polifenoli 22,5 mg) un ķiploku ekstrakta pulveris 100 mg (3 mg *Allium sativum*);

- placebo (a/s “Aconitum”, Lietuva): kapsulas gatavotas no mikrokristāliskās celulozes, kura neietekmē slimības gaitu.

2.3. tabula

Preparāti un pētījuma dalībnieku sadalījums pa grupām

Grupa	Preparāts	Vidējais vecums, gados	Vidējais slimības ilgums, gados	Preparātu lietošanas periods, mēnešos	
				0–9	10–18
GB (N = 26)	<i>Ginkgo Biloba</i> 80 mg	61,2 ± 10,6	10,5 ± 7,5	Viena tablete / kapsula divas reizes dienā	Viena tablete / kapsula trīs reizes dienā
ZT (N = 20)	<i>Camellia sinensis</i> 200 mg	63,7 ± 8,3	9,5 ± 5,2		
GV” (N = 17)	<i>Grinvitals Cerebrola plus</i> 37,5 mg EGb, 37,5 mg ECs, 100 mg <i>Allium sativum</i>	62,3 ± 6,5	10,5 ± 4,2		
Placebo (N = 26)	Placebo	61,8 ± 11,7	11,5 ± 8,0		

Paraugu savākšana: Venozās asinis tika ņemtas pirms pētījuma, pēc deviņiem un 18 mēnešiem. RSU Bioķīmijas laboratorijā asinīs tika noteikti šādi rādītāji: TAS, Se (tikai pētījuma sākumā), Cu, Zn-SOD, KAT un GPx aktivitātes, VE, MDA, 4-HNE, lipīdu hidroperoksīdi (LOOH).

Finansiālais atbalsts:

EUREKA projekts Nr. E!3695 *Antioksidibet “Creation of the methodology for effects of natural antioxidants on the development of the Diabetes mellitus complications”*.

2.1.5. IV pētījuma dizains

Pētījums: gadījumu kontroles.

Dalībnieki: atlasīti vīrieši, kuri saņēmuši mazas jonizējošā starojuma devas, strādājot Černobiļas AES avārijas seku likvidēšanā, ar / bez 2TCD komplikācijām un salīdzināti ar tā paša vecuma 2TCD slimniekiem un praktiski veseliem vīriešiem.

Finansiālais atbalsts: RSU Doktoru studiju grants.

Pētījuma grupu raksturojums un sadalījums

Grupas identifikācija	N	Apraksts	Vecums, gados	Vidējais slimības ilgums, gados
2TCD	36	2TCD pacienti	62,2 ± 9,3	10,5 ± 6,2
2TCD + JS	28	Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji ar 2TCD	61,6 ± 7,9	10,7 ± 3,9
JS	40	Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji bez 2TCD	60,1 ± 6,6	Nav
K	30	praktiski veseli vīrieši	61,0 ± 7,9	Nav

Izslēgšanas faktori: alkoholisms, HIV / AIDS, tuberkuloze, akūtas / hroniskas infekcijas slimības, smagas kardiovaskulāras un cerebrovaskulāras slimības, psihiskas saslimšanas, HbA1c > 13%, ķermeņa masas indekss > 45 kg / m², nekontrolētas hipertensijas vēsture.

Paraugu vākšana: 2TCD pacienti atlasīti no III pētījuma, 2TCD + JS un JS grupas pētījumu dalībniekiem asinis ņemtas P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centrā, K – dažādi.

Noteikti šādi rādītāji: Cu, Zn-SOD un GPx aktivitātes, TAS, Se, MDA, 4-HNE, proteīnkarbonili (PK).

Pētījumos noteiktie rādītāji

Nr.p.k.	Rādītājs	I pētījums	II pētījums	III pētījums	IV pētījums
1.	ABL	n	X	n	n
2.	ALB	n	X	n	n
3.	CEA	X	X	n	n
4.	GPx	n	X	X	X
5.	GSH	n	X	n	n
6.	HL	X	n	n	n
7.	HOL	n	X	n	n
8.	KAT	n	n	X	n
9.	LOOH	n	n	X	n
10.	MDA+4-HNE	n	X	X	X
11.	PK	n	n	n	X
12.	PSA	X	X	n	n
13.	Se	X	X	X	X
14.	Cu, ZN-SOD	n	X	X	X
15.	TAS	X	n	X	X
16.	TBS_MDA	X	n	n	n
17.	TRG	n	X	n	n
18.	VE	X	X	X	n
19.	ZBL	n	X	n	n

n – nav noteikts; X – ir noteikts.

2.2. METODES

2.2.1. Lipīdu peroksidācijas rādītāju noteikšana

Malondialdehīds (MDA) un 4-hidroksinonenāls (4-HNE)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – EDTA).
Metode: manuāla spektrofotometriska.
Tehnoloģijas kods: La / Kim 262.
Iekārta: absorbcijas miroplašū lasītājs “Sunrise Basic” (TECAN, Austrija).
Reaģentu komplekts: *LPO Microplate based assay*, Kat. Nr. FR22.
Ražotājs: *Oxford Biomedical research* (Amerikas Savienotās Valstis (ASV)).
Metodes princips: Metodes princips paredz noteikt atsevišķi MDA (sālsskābē) vai MDA kombinācijā ar HNE (metānsulfonskābes klātbūtnē). Divas molekulas 4-HNE un MDA, reaģējot ar N-metil-2-fenilindolu 45°C, veido stabilu hromoforu ar absorbcijas maksimumu pie 586 nm [Esterbauer, 1990; Janero, 1990].
References intervāls: MDA $1,41 \pm 0,42 \mu\text{M}$; 4-HNE $3,22 \pm 1,40 \mu\text{M}$ (vid. $\pm$ SD).

Ar tiobarbitūrskābi reaģētspējīgie savienojumi (TBS_MDA)

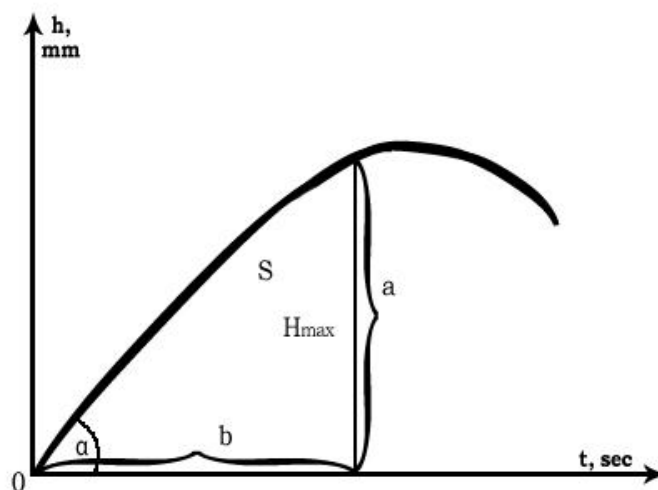
Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns).
Metode: manuāla, spektrofotometriska.
Iekārta: spektrofotometrs “Cary 50” (Varian, Inc., Nīderlande).
Reaģenti: tiobarbitūrskābe, ortofosforskābe, 1,1,3,3-tetraetoksipropāns, 1-butanols.
Ražotājs: *Sigma-Aldrich* (ASV).
Metodes princips: TBS_MDA nosaka pēc krāsojuma intensitātes, kas rodas reakcijā ar tiobarbitūrskābi (TBS) skābā vidē 96°C temperatūrā, pēc optisko blīvumu starpības butanola ekstraktā pie 535 un 580 nm. Pie 535 nm nosaka kopējo TBS aktīvo vielu koncentrāciju, bet pie 580 nm nelipīdu savienojumu daudzumu, kas arī var dot krāsojumu ar TBS. TBS_MDA daudzumu aprēķina pēc standartlīknes, izmantojot MDA standartvielu 1,1,3,3-tetraetoksipropānu [Гаврилов et al., 1987].
References intervāls: $2,20 \pm 0,67 \mu\text{M}$ (vid. $\pm$ SD).

Lipīdu hidroperoksīdi (LOOH)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns).
Metode: manuāla, spektrofotometriskā.
Iekārta: spektrofotometrs “Cary 50” (Varian, Inc., Nīderlande).
Reaģentu komplekts: *Lipid hydroperoxide assay*, Kat.Nr. NWK-LHP01
Ražotājs: Northwest life science specialties, LLC (Vancouver, ASV).
Metodes princips: NWLSSTM lipīdu hidroperoksīdu metode ir balstīta uz LOOH reakciju ar divvērtīgo dzelzi (Fe^{2+}), veidojot trīsvērtīgo dzelzi (Fe^{3+}). Fe^{3+} tālāk reaģē ar ksilēnoranžu, veidojot hromogēnu ar absorbcijas maksimumu pie 560 nm. Lipīdu hidroperoksīdu daudzumu aprēķina pēc kalibrēšanas līknes, kā kalibratoru, izmantojot 9(S)-hidroperoksioktadeka10E, 127-diēnskābi [Nelson et al., 2000].

Hemiluminescences metode (HL)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns).
Metode: manuāla, luminolatkarīga hemiluminiscence.
Iekārta: hemiluminometrs EMELITE 1105 (BCM, Krievija).
Reaģenti: luminols, ūdeņraža peroksīds, dimetilsulfoksīds.
Ražotājs: Sigma-Aldrich (ASV).
Metodes princips: Hemiluminescence pamatojas uz brīvo radikāļu īpašību to rekombinācijas laikā izdalīt gaismas kvantus. Luminolatkarīgā HL tiek reģistrēta ar hemiluminometru EMELITE 1105. Reakcijas komponentus – 2 ml 0,2 M fosfāta bufera ar pH 7,8, 100 μl 10^{-4} M luminola šķīduma un 10 μl plazmas ievieto termostātējamā (37°C), ar nepārtrauktu maisīšanu nodrošinātā hemiluminometra kivetē uz 3 min. Hemiluminiscenci ierosina, pievienojot 500 μl 0,03% H_2O_2 , un reģistrē HL līkni 30 sek. Pēc HL līknes (sk. 2.1. attēlu) tika aprēķināti: $\mathbf{H_{maks}}$. (virsošnes augstums) – raksturo lipīdu hidroperoksīdu daudzumu; $\mathbf{S_{oks}}$. (laukums zem līknes) – raksturo plazmas oksidējamību; $\mathbf{tg\alpha}$ – raksturo LPO ātrumu. [Семехова, 1991; Tatsuhito et al., 1983].
References intervāli: $\mathbf{H_{maks.}} < 80$ nosacītās vienības (nosac. vien.); $\mathbf{S_{oks.}} < 200$ nosac. vien.; $\mathbf{tg\alpha} < 4$ nosac. vien.



2.1. att. Hemiluminiscences mērījumi

2.2.2. Proteīnu oksidācijas produktu noteikšana

Proteīnkarbonili – ELISA (PK)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).

Metode: manuāla, spektrofotometriska.

Iekārta: absorbcijas miropļašu lasītājs “Sunrise Basic” (TECAN, Austrija).

Reaģentu komplekts: *OxiSelect™ protein carbonyl, ELISA*, Kat. Nr. STA 310.

Ražotājs: *Cell biolabs, Inc.* (ASV).

Metodes princips: BSA standarta vai parauga proteīni (10 µg/ml), tiek adsorbēti uz 96 bedrīšu plates divas stundas 37°C temperatūrā. Pēc tam parauga proteīni vai standarta karbonili tiek modificēti ar 2,4-dinitrofenilhidrazīnu līdz DNP hidrazonam un savienoti ar anti-DNP antivielu, un konjugēti ar sekundārās antivielas HRP konjugātu. Proteīnu karbonilu daudzumi paraugā tiek aprēķināti pēc kalibrēšanas līknes, kas tika iegūta no iepriekš reducētā un oksidētā BSA standarta [Cadenas et al., 1977].

References intervāls: < 310 pM/mg proteīna.

2.2.3. Antioksidatīvās enzimatiskās aizsardzības sistēmas rādītāju noteikšana

Cu, Zn-Superoksīda dismutāze (Cu, Zn-SOD; E.C.1.15.1.1)

Testēšanas objekts: asinis (antikoagulants – Li-heparīns).

Paraugu sagatavošana: Heparinizētas asinis centrifugē ar 3000 rpm 10 minūtes un nosūc augšējo slāni. Pēc tam eritrocītus (Er) mazgā trīs reizes ar izotonisko šķīdumu, centrifugējot katru reizi pēc katras mazgāšanas 10 minūtes ar 3000 rpm. Mazgātos eritrocītus (0,2 ml) lizē līdz 2,0 ml ar aukstu redestilētu ūdeni, samaisa un tur 15 minūtes. +4°C temperatūrā. Lizātu atšķaida ar 0,01 mol/L fosfāta buferšķīdumu pH 7,0 tā, lai inhibēšanas procenti būtu starp 30% un 60% (lizāta atšķaidījums cilvēku paraugiem – 25).

Metode: automātiska spektrofotometriskā, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Radox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 163.

Iekārta: analizators *RX Daytona (Radox laboratories, Ltd., Crumlin, Apvienotā Karaliste (AK))*.

Reaģentu komplekts: *RANSOD*, Kat. Nr. SD125.

Kvalitātes kontrole: Kalibrators un paraugi tika atšķaidīti ar šķīdinātāju – 0,01 mol/L fosfātu buferšķīduma, pH 7,0 – *RANSOD Diluent*, Kat. Nr. SD 124. Kontrole – standartizēts, liofilizēts vērša serums – *RANSOD Control*, Kat. Nr. SD 126.

Ražotājs: *Radox laboratories, Ltd. (Crumlin, AK)*.

Metodes princips: Superoksīda dismutāze (SOD) oksidatīvi enerģētiskos procesos radušos toksisko superoksīda radikāli ($O_2^{\cdot-}$) dismutē par hidrogēnperoksīdu un molekulāro skābekli. Šajā metodē ksantīnu un ksantīnoksidāzi izmanto superoksīdradikāļa ģenerēšanai, kurš, reaģējot ar 2-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolija hlorīdu (I. N. T.), veido sarkanu formazāna krāsojumu. Superoksīddismutāzes aktivitāte tiek mērīta spektrofotometriski pēc šīs reakcijas inhibēšanas pakāpes pie 505 nm [Wooliams *et al.*, 1983]. Eritrocītu absolūtās vienības SOD U/ml pārrēķina uz g hemoglobīna – U/gHb.

References intervāls: 1454 ± 147 U/gHb (vid. $\pm$ SD).

Glutationperoksidāze (GPX; EC.1.11.1.9.)

Testēšanas objekts: asinis (antikoagulants – Li-heparīns).

Parauga sagatavošana: atšķaida 0,05 ml heparinizētas asinis ar 1 ml atšķaidīšanas šķīdumu un inkubē piecas minūtes 37°C temperatūrā. Pievieno vienu ml Drabkina reaģentu, labi samaisa un tālāk izmanto analizēšanai.

Metode: automātiska spektrofotometriska, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 184.

Iekārta: analizators *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.

Reaģentu komplekts: *RANSEL*, Kat. Nr. RS504.

Kvalitātes kontrole: Kalibrators un kontrole – liofilizēts vērša serums – *RANSEL Control* Kat. Nr. SC 692.

Ražotājs: *Randox Laboratories, Ltd., Crumlin, AK*.

Metodes princips: Glutationperoksidāze katalizē kumenes hidroperoksīda klātbūtnē glutatona (GSH) oksidēšanos. Oksidētais glutatons (GSSG) tālāk glutationreduktāzes (GR) un NADPH ietekmē pārvēršas reducētā formā – GSH, vienlaicīgi oksidējoties NADPH par NADP⁺. Glutationperoksidāzes aktivitāte atbilst absorbcijas kritumam pie 340 nm, ko izraisa NAPH oksidēšanās. Viena vienība atbilst fermenta daudzumam, ko izraisa 1,0 μM NADPH oksidēšanās par NADP⁺ 1 minūtē pie 340 nm 37°C temperatūrā [*Paglia et al.*, 1967].

References intervāls: 8530 ± 2352 U / L (vid. ± SD)

Katalāze (KAT; EC 1.11.1.6)

Testēšanas objekts: asinis (antikoagulants – Li-heparīns).

Parauga sagatavošana: tāpat kā norādīts Cu, Zn-SOD aktivitātes noteikšanā.

Metode: manuāla, spektrofotometriska.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 240.

Iekārta: spektrofotometrs “Cary 50” (*Varian, Inc., Nīderlande*).

Reaģenti: KH₂PO₄; Na₂HPO₄*2H₂O; 30% H₂O₂.

Ražotājs: *Sigma-Aldrich, Fluka (ASV)*.

Kā standarts tika izmantots katalāzes standarta šķīdums – *Catalase from Aspergillus niger* (Kat. Nr. EC.Nr. 232-577-1, Aldrich, ASV).

Metodes princips: Katalāzes aktivitātes noteikšana pamatojas uz ūdeņraža peroksīda šķelšanos KAT klātbūtnē, ko nosaka pēc absorbcijas samazināšanās pie 240 nm. Katalāzes aktivitāti izsaka kinētiskā ātruma konstantē (k) uz g hemoglobīna (Er) [Aebi, 1984].

References intervāls: 140–360 k/gHb.

2.2.4. Antioksidatīvās neenzimātiskās aizsardzības sistēmas rādītāju noteikšana

E vitamīns (VE)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns).

Metode: manuāla, fluorimetriska.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 238.

Iekārta: fluorimetrs “Cary Eclipse” (Varian, Inc., Nīderlande).

Reāģenti: etilspirts 96°, n-heksāns (ar augstākās pakāpes tīrību).

Ražotājs: Sigma-Aldrich (ASV).

Kvalitātes kontrole: Kalibrators – sintētiskais E vitamīns ($\pm$)- α -Tocopherol, $\geq 96\%$, (Kat. Nr. T3251, Sigma, ASV).

Kontrole – standartizēts, liofilizēts serums – A / E Vitamin, level II (EUROTROL, Kat. Nr. 007.002.018, Nīderlande).

Metodes princips: Metodes pamatā ir E vitamīna ekstrakcija ar heksānu – asins plazmas un iegūtā ekstrakta fluorescences noteikšana pie ierosmes viļņa garuma 292 nm un emisijas viļņa garuma 320 nm [Thompson et al., 1973].

References intervāls: 5–16 $\mu\text{g/ml}$.

Totālais antioksidantu statuss (TAS)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns).

Metode: automātiska spektrofotometriska, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK).

Tehnoloģijas kods: La / Kim 110.

Iekārta: analizators RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK).

Reāģentu komplekts: Total antioxidant status, Kat. Nr. NX 2332.

Kvalitātes kontrole: Standartizēts, liofilizēts vērša serums – *Randox total antioxidant control*, Kat. Nr.NX 2331.

Ražotājs: *Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK.*

Metodes princips: ABTS® (2,2-Azino-di-{3-etilbenztiazolīna sulfonāts}), inkubējot ar peroksidāzi (metmioglobīns) un H₂O₂, veidojas ABTS® radikāļa katjons. Tas ir relatīvi stabils zilgani zaļš krāsojums, kuru mēra spektrofotometriski pie 600 nm. Paraugā esošie antioksidanti kavē šā krāsojuma veidošanos, kas ir proporcionāla tā koncentrācijai [*Miller et al.*, 1993].

References intervāls: 1,30–1,77 mM.

Selēns (Se)

Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).

Metode: manuāla, fluorimetriska.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 237.

Iekārta: fluorimetrs “Cary Eclipse” (*Varian, Inc.*, Nīderlande).

Reaģenti: 2,3-diaminonaftelēns, Na-etilēndiamīntetraetiķskābe, 30% ūdeņraža peroksīds, hidroksilamonija hlorīds, slāpekļskābe, amonjaks, skudrskābe, sāļsskābe, sērskābe, hlorskābe, n-heksāns.

Ražotājs: *Sigma-Aldrich, Fluka* (ASV).

Kvalitātes kontrole: Kalibrators – *Selenium standard*, 1000 mg/L (*Aldrich*, Kat. Nr.24,792-8, ASV).

Kontrole – *Seronorm TE, serum level I* (*Sero AS*, Kat. Nr. 201 405, Norvēģija).

Metodes princips: Selēna fluorimetriskā metode pamatojas uz selēna reducēšanos līdz četrvērtīgiem savienojumiem, kuri ar 2,3-diaminonaftalēnu veido kompleksus, ko nolasa pie ierosmes viļņa garuma 369 nm un emisijas viļņa garuma 518 nm ar maksimumu 518–515 nm robežās [*Alfthan*, 1984].

References intervāls: 80–120 µg/L.

Reducētais glutations (GSH)

Testēšanas objekts:	asinis (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).
Metode:	manuāla, spektrofotometriskā.
Tehnoloģijas kods:	La / FIK 081.
Iekārta:	spektrofotometrs “Cary 50” (<i>Varian, Inc.</i> , Nīderlande).
Reaģenti:	HPO ₃ , NaPO ₃ , EDTA, NaCl, Na ₂ HPO ₄ *12H ₂ O, 5'-ditiobis (2-nitrobenzoscābe), Na citrāts.
Ražotājs:	<i>Sigma-Aldrich, Fluka</i> (ASV).
Kalibrators:	L-reducētais glutations, 98% , Kat. Nr. G470-5, <i>Aldrich</i> , ASV.
Metodes princips:	Ar metafosforskābes-NaCl-EDTA šķīdumu izgulsnētais asiņu filtrātā esošais GSH reaģē ar ūdenī šķīstošo 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzoscābi (DTNB), veidojot dzeltenu krāsojumu. Maisījuma optiskais blīvums pie 412 nm ir tieši proporcionāls GSH daudzumam paraugā. Glutaciona daudzumu aprēķina pēc kalibrēšanas līknes, izmantojot L-reducēto glutationu [<i>Beutler et al.</i> , 1963].
References intervāls:	1,6–2,8 mM.

2.2.5. Bioķīmiskās metodes

Hemoglobīns (Hb)

Testēšanas objekts:	asinis.
Metode:	manuāla, spektrofotometriskā.
Tehnoloģijas kods:	La / Kim 066.
Iekārta:	spektrofotometrs “Cary 50” (<i>Varian, Inc.</i> , Nīderlande).
Reaģenti:	<i>Drabkin reagent</i> , Kat. Nr. HG1539.
Ražotājs:	<i>Randox laboratories, Ltd.</i> (<i>Crumlin</i> , AK).
Metodes princips:	Metodes pamatā ir asins hemoglobīna oksidēšana ar kālija heksacianoferātu par methemoglobīnu, kurš tālāk tiek pārvērsts par ciānmethemoglobīnu ar kālija cianīda palīdzību. Ciānmethemoglobīna koncentrāciju paraugā nosaka fotometriski pie viļņa garuma 540 nm 10 mm ķīvetē [<i>Van Kampen et al.</i> , 1961].

Triglicerīdi (TRG)

- Testēšanas objekts: serums, plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).
- Metode: automātiska spektrofotometriskā, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.
- Tehnoloģijas kods: La / Kim167.
- Iekārta: analizators *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.
- Reaģentu komplekts: *Triglycerides (liquid) assay*, Kat. Nr. TR 3823.
- Kvalitātes kontrole: Kalibrators un kontrole – standartizēti, liofilizēts cilvēka serums – *Calibration serum, level 3 (CAL 3)* un *Lipid control, level 1, level 2, level 3* (Kat. Nr. CAL2351, LE 2668, LE 2669, LE 2670).
- Ražotājs: *Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK*.
- Metodes princips: Fermentatīva reakcija. Triglicerīdi tiek noteikti pēc to enzimatiskās hidrolīzes lipāžu klātbūtnē. Indikators ir kvinoneimīns, kas veidojas no hidroģenperoksīda, 4-aminofenazona un 4-hlorofenola, peroksidāzes katalītiskā ietekmē [Jacobs et al., 1960].
- References intervāls: < 1,7 mmol/L.

Albumīns (ALB)

- Testēšanas objekts: plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).
- Metode: automātiska spektrofotometriskā, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.
- Tehnoloģijas kods: La / Kim 009.
- Iekārta: analizators *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.
- Reaģentu komplekts: *Albumin assay*, Kat. Nr. AB362.
- Kvalitātes kontrole: Kalibrators un kontrole – standartizēts, liofilizēts cilvēka serums – *calibration serum, level 3 (CAL 3)* un *human assayed multi-sera, level 2, level 3* (Kat. Nr. CAL 2351, HN 1530, HE 1532).
- Ražotājs: *Randox laboratories, Ltd. Crumlin, AK*.
- Metodes princips: Albumīna noteikšana balstās uz tā kvantitatīvu saistīšanos ar indikatoru – 3, 3', 5, 5'-tetrabrom-m-krezolsulfoneftaleīnu (bromokrezolzaļais, BKZ). Albumīns-BKZ komplekss maksimāli absorbējas pie 578 nm un absorbcija ir tieši proporcionāla albumīna koncentrācijai paraugā [Grant et al., 1987].

References intervāls: 34–50 g/L.

Holesterīns (HOL)

Testēšanas objekts: serums, plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).

Metode: automātiska spektrofotometriskā, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona* (*Randox laboratories., Ltd., Crumlin, AK*).

Tehnoloģijas kods: La / Kim100.

Iekārta: analizators *RX Daytona* (*Randox laboratories., Ltd., Crumlin, AK*).

Reaģentu komplekts: *Cholesterol (liquid) assay*, Kat. Nr. CH3810.

Ražotājs: *Randox laboratories., Ltd. (Crumlin, AK)*.

Metodes princips: Holesterol-esterāzes, holesteroloksidāzes peroksidāzes (CHOD / POD) reakcija. Enzimātiska beigu punkta metode holesterīna noteikšanai pēc enzimātiskas hidrolīzes un oksidācijas. Indikators – kvinoneimīns – veidojas no hidrogenperoksīda un 4-aminoantipirīna, fenola un peroksidāzes klātbūtnē [Abell *et al.*, 1992].
Par kalibratoru un kontrolei tika izmantots standartizēts, liofilizēts cilvēka serums – *Calibration serum, level 3*(CAL 3) un *Lipid control, level 1, level 2, level 3* (Kat. Nr. CAL 2351, LE 2668, LE 2669, LE 2670, *Randox laboratories., Ltd., Crumlin, AK*).

References intervāls: < 5 mmol/L.

Zema blīvuma lipoproteīdi (ZBL)

Testēšanas objekts: serums, plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).

Metode: automātiska spektrofotometriskā, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona* (*Randox laboratories., Ltd., Crumlin, AK*).

Tehnoloģijas kods: La / Kim 179.

Iekārta: analizators *RX Daytona* (*Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK*).

Reaģentu komplekts: *Ldl-cholesterol (liquid) assay*, Kat. Nr. CH3841.

Kvalitātes kontrole: Kalibrators un kontrole – standartizēts, liofilizēts cilvēka serums –*Direct Ldl/Hdl Cholesterol calibrator (d LDL/HDL CAL)* un *Lipid control, level 1, level 2, level 3* , Kat. Nr. CH 2673, LE 2668, LE 2669, LE 2670.

Ražotājs: *Randox laboratories,Ltd. (Crumlin, AK)*.

Metodes princips: Noteikšana sastāv no divpakāpju reakcijām:

- 1) hilomikronu, L₂ZBL holesterīna un ABL holesterīna izdalīšana ar holesterolesterāzes, holesteroloksidāzes un katalāzes līdzdalību;
- 2) ZBL – H specifiskā noteikšana pēc tā atbrīvošanas ar deterģentiem reaģentā Nr. 2. Hinona imīna krāsojuma intensitāte ir tieši proporcionāla holesterīna koncentrācijai, mērot pie 600 nm [Rifai et al., 1992].

References intervāls: < 4 mmol/L.

Augsta blīvuma lipoproteīdi (ABL)

Testēšanas objekts: serums, plazma (antikoagulants – Li-heparīns, EDTA).

Metode: automātiska spektrofotometriska, saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.

Tehnoloģijas kods: La / Kim 027.

Iekārta: analizators *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, AK)*.

Reaģentu komplekts: *Hdl-cholesterol (liquid) assay*, Kat. Nr. CH3811.

Kvalitātes kontrole: Kalibrators un kontrole – standartizēts, liofilizēts cilvēka serums – *Direct Ldl/Hdl Cholesterol calibrator (d LDL/HDL CAL)* un *Lipid control – level 1, level 2, level 3*, Kat. Nr. CH 2673, LE 2668, LE 2669, LE 2670.

Ražotājs: *Randox laboratories, Ltd. (Crumlin, AK)*.

Metodes princips: Tiešā fermentatīvā reakcija. Hilomikronu, ļoti zema blīvuma lipoproteīnu – holesterīna – un zema blīvuma lipoproteīnu – holesterīna – izdalīšana ar holesterolesterāzes, holesteroloksidāzes un katalāzes līdzdalību. ABL – H specifiskā noteikšana pēc tā atbrīvošanas ar deterģentu reaģentā. Hinona imīnu krāsojuma intensitāte ir tieši proporcionāla holesterīna koncentrācijai pie 600 nm [National institutes of Health consensus development Conference statement: Triglyceride, high density lipoprotein and coronary heart disease. Washington D. C. Feb. 26–28, 1992.]

References intervāls: > 1,1 mmol/L.

2.2.6. Datu statistiskā apstrāde

Pacientu bioķīmisko analīžu apstrādes rezultātā tika iegūti skaitliski (veido skaitļu skalu) lielumi, kas nebija normāli sadalīti un tādēļ tika lietotas neparametriskās statistikas metodes.

Skaitļu skalas centrālā tendence tika raksturota ar mediānas vērtību, bet rezultātu izkliede – ar starpkvartīļu izkliedi (arī tekstos latviešu valodā tiek lietota šī raksturlieluma angļiskā abreviatūra IQR – *interquartile range*). Šie aprakstošās statistikas raksturlielumi attēloti arī grafiski (grafikas veids – *Boxplot*), kur redzama dotā lieluma mazākā un lielākā vērtība, 25. un 75. procentīle (tās uzrāda IQR robežas), kā arī 50. procentīle – mediānas vērtība.

Pētījuma grupu skaitlisko lielumu savstarpējai salīdzināšanai, lai konstatētu, vai tie atšķiras, tika lietots neparametriskās statistikas Manna – Vitnija (*Mann – Whitney*) un Kruskala – Vollisa (*Kruskal – Wallis*) tests neatkarīgām izlasēm. Šajos un arī citos salīdzinošās statistikas testos tika aprēķināts nozīmīgums (p vērtība). Ja testi uzrādīja p vērtību mazāku vai vienādu ar 0,05, tad tika uzskatīts, ka atšķirības ir statistiski ticamas. Ja skaitļu skalas dati tika pārkodēti nominālu skalā, tad grupu salīdzināšanai tika lietots Hi – kvadrāta un Fišera tests.

Novērtējot atšķirības starp atkārtotu analīžu rezultātiem tiem pašiem pacientiem tika lietots neparametriskās statistikas Vilkoksona (*Wilcoxon*) un Frīdmana (*Friedman*) tests.

Lai konstatētu iespējamās sakarības starp izlases pazīmēm tika veikta Spīrmena (*Spearman*) korelācijas analīze.

Statistiskie aprēķini un attēlu izveide tika veikta datorprogrammā IBM SPSS 20.0 un MS Excel.

3. REZULTĀTI

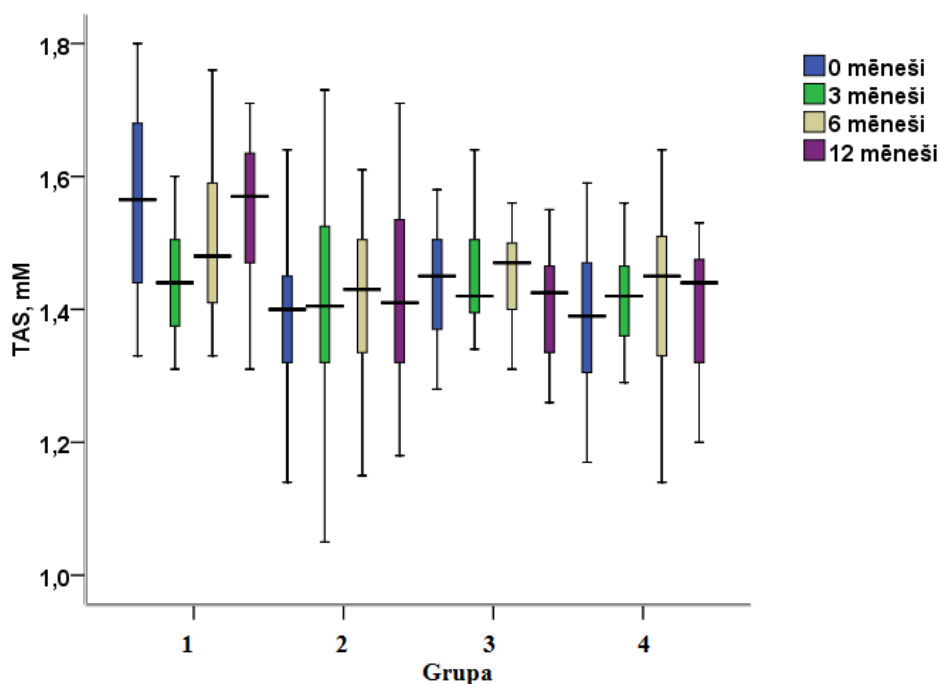
3.1. I pētījums

3.1.1. TAS daudzuma izmaiņas

Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņu rezultāti atainoti 3.1. attēlā. Statistiski ticamas izmaiņas bija divās pētījuma grupās – VE + Se un *Placebo*.

VE + Se grupā TAS daudzums statistiski ticami samazinājās 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu (0 mēn.) – no 1,57 (0,24) līdz 1,44 (0,14) mM ($p = 0,003$). Pēc tam TAS daudzums, salīdzinot ar 3. mēn., statistiski ticami paaugstinājās 6. mēn. līdz 1,48 (0,19) mM ($p = 0,03$) un 12. mēn. līdz 1,57 (0,18) mM ($p = 0,013$).

VE + Se grupā TAS daudzums bija statistiski ticami augstāks, salīdzinot ar pārējām grupām (IBF gr. $p = 0,007$, *Placebo* gr. $p = 0,035$, VE + Se + IBF gr. $p = 0,035$).



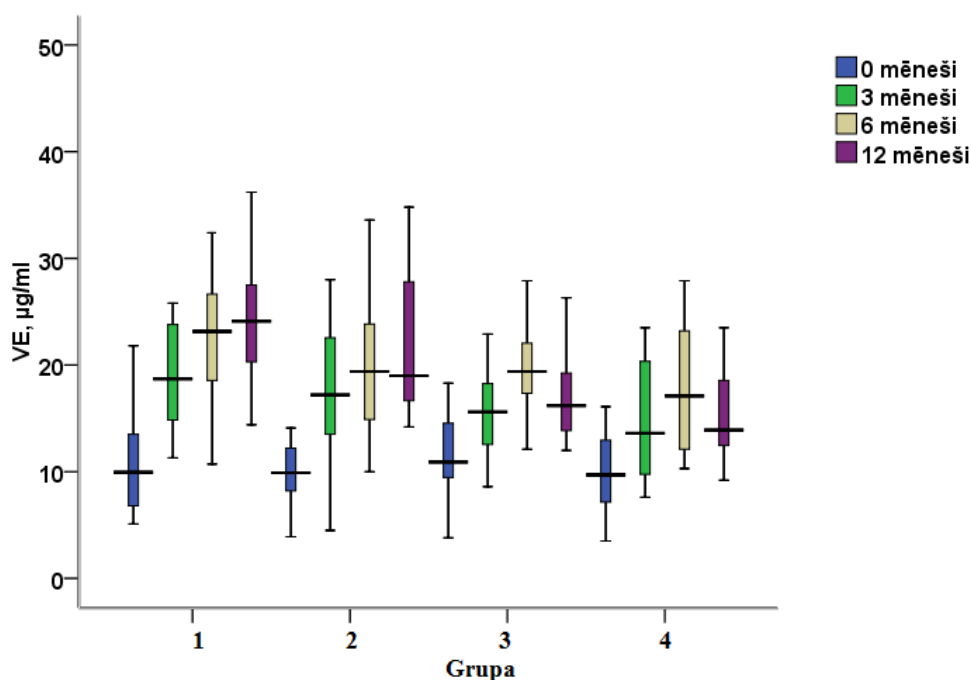
3.1. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz
totālā antioksidantu statusa (TAS) daudzumu
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr.; 3 –IBF gr.; 4 –*Placebo* gr.

Placebo grupā TAS daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami palielinājās 3. mēn. no 1,39 (0,17) līdz 1,42 (0,11) mM ($p = 0,024$), bet 6. mēn. bija tuvu statistiski ticamam – līdz 1,45(0,19) mM ($p = 0,077$).

Pārējās grupās izmaiņas netika konstatētas. TAS daudzums atbilda references intervālam (1,30–1,77 mM).

3.1.2. E vitamīna daudzuma izmaiņas

E vitamīna daudzuma izmaiņu rezultāti atspoguļoti 3.2. attēlā.



3.2. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz E vitamīna (VE) daudzuma izmaiņām

1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 – IBF gr., 4 – Placebo gr.

VE + Se grupā VE daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami pieauga 3. mēn. – par 87%, t. i., no 10,0 (7,2) līdz 18,7 (9,1) µg/ml ($p = 0,002$) un 6. mēn. par 132%, t. i., līdz 23,2 (8,9) µg/ml ($p < 0,001$). Pētījuma beigās (12. mēn.), salīdzinot ar 6. mēn., VE daudzums statistiski ticami palielinājās par 3,8%, t. i., līdz 24,1 (9,3) µg/ml ($p = 0,049$), bet salīdzinot ar sākuma posmu, tas palika statistiski ticami paaugstināts par 141% ($p < 0,001$).

Salīdzinot VE + Se grupu ar Placebo gr., VE daudzums statistiski ticami bija paaugstināts 3. mēn. ($p = 0,035$), 6. mēn. ($p = 0,042$) un 12. mēn. ($p < 0,001$). Salīdzinot ar IBF grupu, VE daudzums statistiski ticami bija paaugstināts 12. mēn. ($p < 0,001$).

VE + Se + IBF grupā VE daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami pieauga 3. mēn. par 74%, t. i., no 9,90 (4,7) līdz 17,2 (9,5) µg/ml ($p < 0,001$), 6. mēn. par 96%, t. i., līdz 19,4 (9,8) µg/ml ($p < 0,001$). Pētījuma beigās VE daudzums, salīdzinot ar 6. mēn., nemainījās, bet, salīdzinot ar sākuma posmu, tas bija statistiski ticami paaugstinājies par 92%, t. i., līdz 19,0 (11,8) µg/ml ($p < 0,001$). VE + Se + IBF grupā, salīdzinot ar IBF un Placebo gr., VE daudzums statistiski ticami bija paaugstināts 12. mēn. ($p < 0,001$).

IBF grupā VE daudzums statistiski ticami pieauga 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, – no 10,9 (5,4) līdz 15,6 (6,7) µg/ml, t. i., par 56 % ($p = 0,001$) un 6. mēn. – līdz 19,4 (5,2) µg/ml, t. i., par 78% ($p < 0,001$). Pētījuma beigās VE daudzums statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar 6. mēn., par 16%, t. i., līdz 16,2 (6,3) µg/ml ($p = 0,011$) un palika statistiski ticami paaugstināts par 48% ($p = 0,001$), salīdzinot ar sākuma posmu. Salīdzinot IBF gr. ar *Placebo* gr., statistiski ticamas atšķirības netika konstatētas.

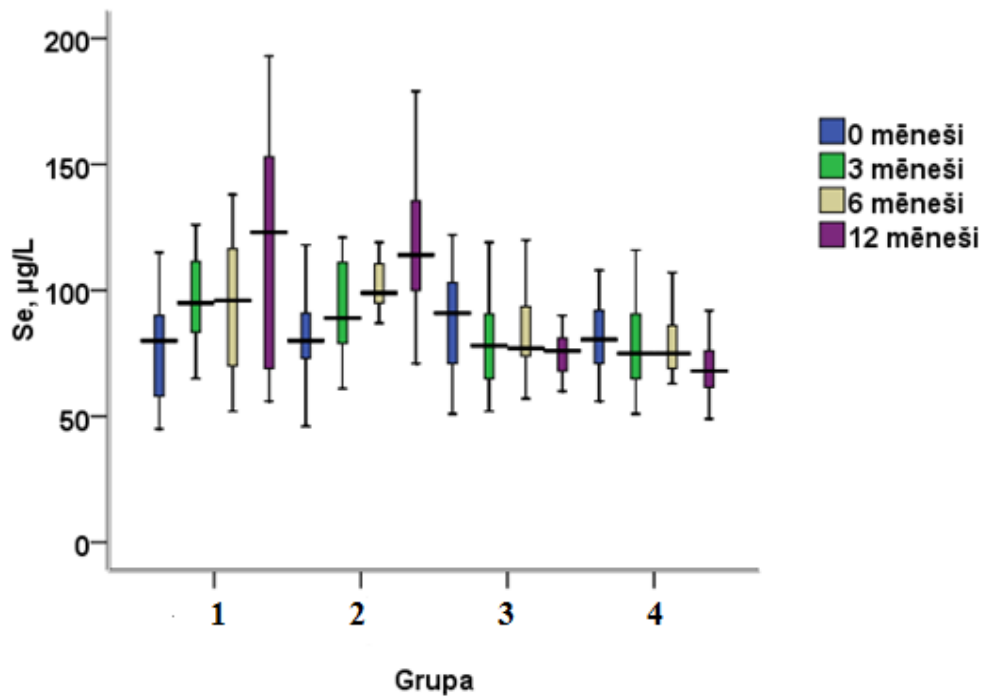
Līdzīgi VE daudzums izmainījās *Placebo* grupā. E vitamīna daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami pieauga 3. mēn. par 40,2%, t. i., no 9,70 (6,0) līdz 13,6 (10,9) µg/ml ($p = 0,001$) un 6. mēn. par 76,3%, t. i., līdz 17,1(11,4) µg/ml ($p = 0,001$). E vitamīna daudzums pētījuma beigās, salīdzinot ar 6. mēn., statistiski ticami samazinājās par 18,7%, t. i., līdz 13,9 (7,6) µg/ml ($p = 0,019$), bet, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami paaugstinājās par 43% ($p = 0,002$).

3.1.3. Selēna daudzuma izmaiņas

Selēna daudzuma izmaiņu rezultāti attēloti 3.3. attēlā.

VE + Se grupā Se daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami pieauga 12. mēn. par 53,7%, t. i., no 80 (36) līdz 123 (49) µg/L ($p = 0,013$), bet 3. mēn. un 6. mēn. tā palielinājums par 18,8% , t. i., līdz 95 (34) un 96 (49) µg/L nebija statistiski ticams. Salīdzinot ar *Placebo* un IBF grupu, Se daudzums statistiski ticami bija paaugstināts 3. mēn. ($p = 0,01$; $p = 0,016$, attiecīgi) un 12. mēn. ($p = 0,002$; $p = 0,02$, attiecīgi).

VE + Se + IBF gr. Se daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, 3. mēn. pieauga statistiski tuvu ticami no 80 (19) līdz 89 (33) µg/L, t. i., par 11,25% ($p = 0,051$), bet statistiski ticami 6. mēn. līdz 99 (17) µg/L, t. i., par 23,75% ($p = 0,003$) un 12. mēn. līdz 114 (40) µg/L, t. i., par 43% ($p = 0,001$).



3.3. att. Selēna (Se), E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz Se daudzuma izmaiņām
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 – IBF gr., 4 – Placebo gr.

Starp 3. un 6. mēn. Se daudzuma pieaugums nebija statistiski ticams, toties no 6. līdz 12. mēn. tā palielinājums bija statistiski ticams ($p = 0,030$). Salīdzinot ar *Placebo* un IBF gr., Se daudzums statistiski ticami bija paaugstināts 3. mēn. ($p = 0,016$; $p = 0,041$, attiecīgi), 6. mēn. ($p < 0,001$; $p = 0,005$, attiecīgi) un 12. mēn. ($p < 0,001$; $p < 0,001$, attiecīgi).

IBF gr. Se daudzums tuvu statistiski ticamam samazinājās 12. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu no 91 (35) līdz 76 (15) µg/L, t. i., par 16,4% ($p = 0,093$). Salīdzinot ar *Placebo* gr., statistiski ticamas atšķirības nebija konstatētas.

Placebo gr. Se daudzums, salīdzinot ar 0 mēn., statistiski ticami samazinājās 12. mēn. no 80,5 (24) līdz 68 (17) µg/L, t. i., par 15,5% ($p = 0,007$), bet 3. un 6. mēn. Se samazināšanās līdz 75 (26) un 68 (17) µg/L nebija statistiski ticama.

3.1.4. TBS_MDA daudzuma izmaiņas

Visās pētījuma grupās TBS_MDA daudzumam pirmajos trīs mēnešos bija tendence samazināties, toties tuvu statistiski ticamam tā bija IBF un VE + Se grupā (3.1. tabula). No 3. mēn. līdz 6. mēn. TBS_MDA daudzumam bija tendence pieaugt, izņemot IBF gr., kurā TBS_MDA daudzums turpināja samazināties.

TBS_MDA (μM) daudzuma izmaiņas

Grupa	N	0 mēn.	3. mēn.	6. mēn.	12. mēn.
<i>Placebo</i>	20	2,99 (0,68)	2,67 (0,64)	2,80 (0,61)	2,61 (0,43)* p = 0,014
IBF	20	3,20 (0,92)	3,04 (0,75)	2,82 (0,74)	3,12 (0,55)
VE + Se	16	3,23 (0,89)	2,83 (0,72)	2,93 (0,67)	2,99 (0,55)* p = 0,030
VE + Se + IBF	21	3,04 (0,64)	2,75 (0,41)	2,93 (0,80)	2,61 (0,79) ⁺ p = 0,034

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). *Statistiski ticami atšķiras no 0 mēn.;
+ statistiski ticami atšķiras no 6. mēn., N – dalībnieku skaits.

No 6. mēn. līdz 12. mēn. TBS_MDA daudzumam bija tendence pieaugt IBF grupā, bet *Placebo* gr. tas samazinājās tuvu statistiski ticamam (p = 0,081), bet VE + Se + IBF gr. – statistiski ticami (p = 0,034).

Pētījuma beigās TBS_MDA daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās *Placebo* gr. (p = 0,014) un VE + Se gr. (p = 0,030).

Pētījuma beigās TBS_MDA daudzums, salīdzinot ar *Placebo* grupu, statistiski ticami bija paaugstināts IBF gr., bet VE + Se gr. – pazemināts.

Salīdzinot IBF gr. ar VE + Se + IBF gr., TBS_MDA daudzums pētījuma beigās bija statistiski ticami (p = 0,009) zemāks grupā, kurā tika lietoti antioksidanti.

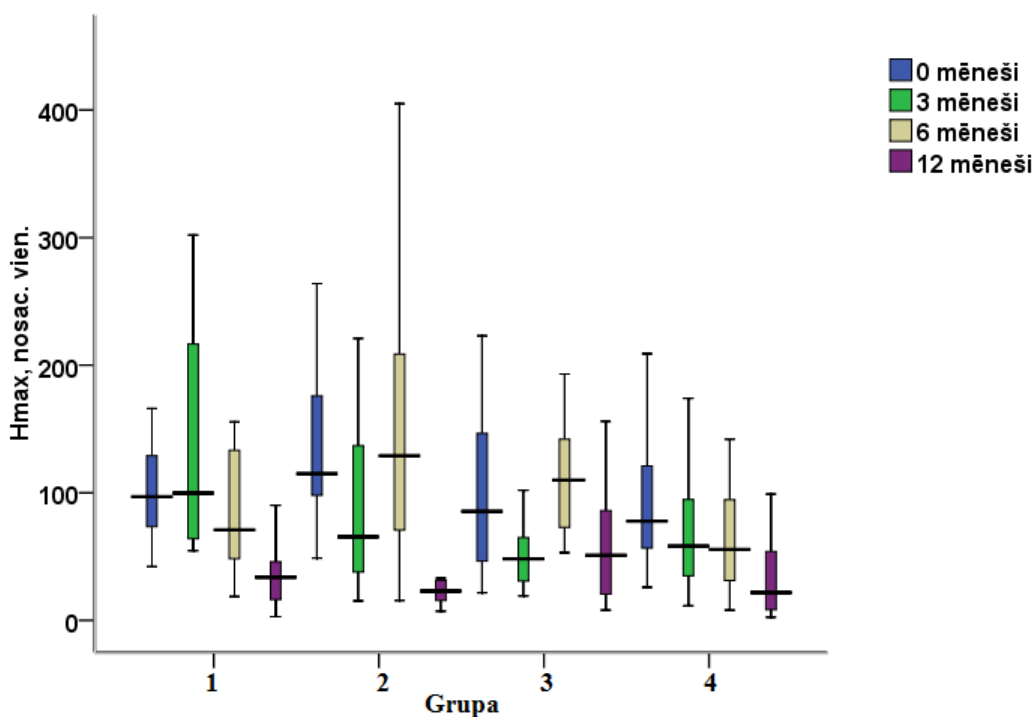
3.1.5. Hemiluminiscences rādītāju izmaiņas

Pētījumu grupās, kurās lietoja IBF gan vienu pašu, gan kopā ar antioksidantiem, HL rādītāju rezultātu izmaiņām bija līdzīgs raksturs. Līdzīgas izmaiņas bija starp *Placebo* un VE + Se grupās noteiktajiem rādītājiem.

Hemiluminiscences rādītāja $H_{\text{maks.}}$ jeb lipīdu peroksīdu daudzuma (nosac. vien.) izmaiņas.

Hemiluminiscences rādītāja $H_{\text{maks.}}$ jeb lipīdu peroksīdu daudzuma (nosac.vien.) izmaiņu rezultāti atainoti 3.4. attēlā.

VE + Se grupā $H_{\text{maks.}}$ statistiski ticami bija samazinājies 12. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, – no 97,0 (63,1) līdz 33,8 (31,4) nosac. vien. (p = 0,008); salīdzinot ar 3. mēn. – līdz 99,7 (157,7) nosac. vien. (p = 0,001); salīdzinot ar 6. mēn. – līdz 71,0 (98,0) nosac. vien. (p = 0,011). $H_{\text{maks.}}$ bija statistiski ticami augstāks 3. mēn., salīdzinot ar *Placebo* gr. (p = 0,007) un VE + Se + IBF gr. (p = 0,022).



3.4. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz hemiluminiscences rādītāja H_{maks} , jeb lipīdu peroksīdu daudzuma izmaiņām
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 – IBF gr.; 4 – Placebo gr.

VE + Se + IBF gr. H_{maks} . 3. mēn. samazinājās tuvu statistiski ticamam, salīdzinot ar sākuma posmu, – no 115,0 (89,0) līdz 65,6 (101,0) nosac. vien. ($p = 0,059$). No 3. mēn. līdz 6. mēn. lipīdu proksīdu daudzumam bija tendence pieaugt līdz 129,0 (144,6) nosac. vien. Pētījuma beigās, t. i., 12. mēn. H_{maks} . samazinājās statistiski ticami līdz 23,0 (17,7) nosac. vien. ($p < 0,001$), salīdzinot ar sākuma posmu, 3. un 6. mēn. – par attiecīgi 80%, 64,9% un 82,2%. Salīdzinot ar Placebo gr., H_{maks} . statistiski ticami bija palielināts 6. mēn. ($p = 0,008$), bet 12. mēn. atšķirības nebija konstatētas. Salīdzinot ar VE + Se gr., H_{maks} . bija statistiski ticami zemāks 3. mēn. ($p = 0,022$).

Pētījuma beigās, salīdzinot VE + Se + IBF gr. ar IBFgr., tika konstatēts, ka H_{maks} . zemāks grupā, kurā tika lietoti antioksidanti, bet šī atšķirība bija tuvu statistiski ticamai ($p = 0,055$).

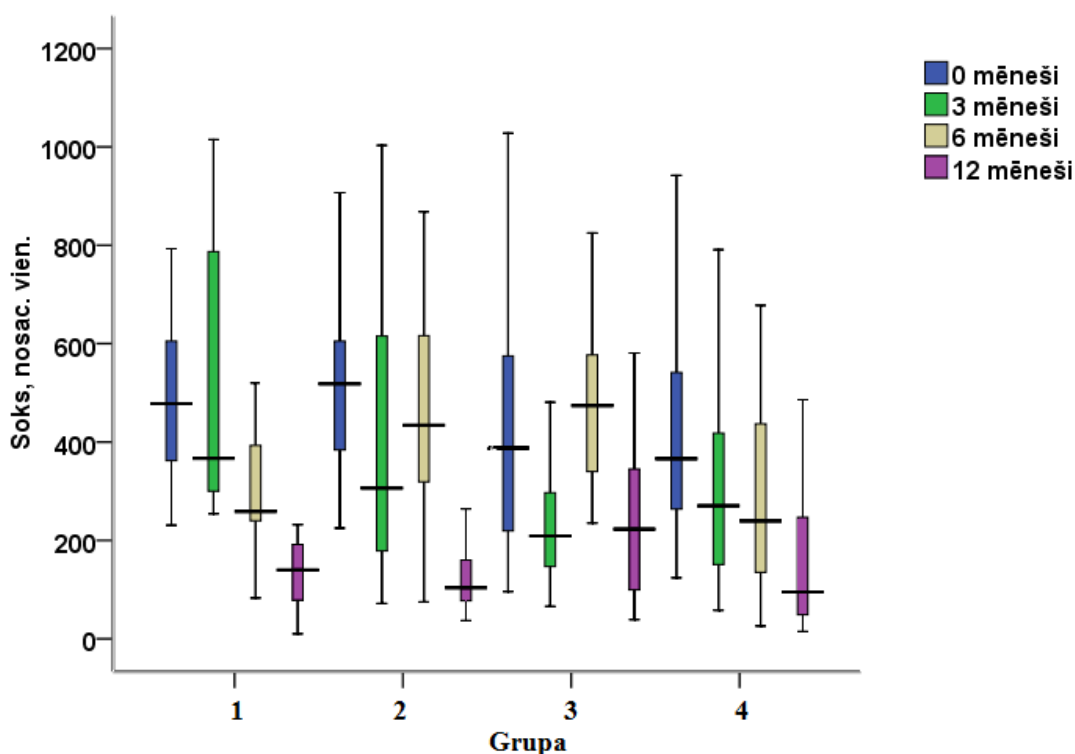
IBF gr. H_{maks} . statistiski ticami samazinājās 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, – par 43,5%, t. i., no 85,5 (113,1) līdz 48,3 (38,3) nosac. vien. ($p = 0,013$). H_{maks} . 6. mēn. statistiski ticami pieauga, salīdzinot ar 3. mēn., – par 128%, t. i., līdz 110,4 (91,6) nosac. vien. ($p = 0,015$), bet 12. mēn. statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar 6. mēn. par 53,8%, t. i., līdz 51,0 (74,6) nosac. vien. ($p = 0,006$).

Placebo gr., salīdzinot ar sākuma posmu, H_{maks} . statistiski ticami ($p = 0,020$) samazinājās 6. mēn. par 28,4%, t. i., no 77,8 (64,4) līdz 55,7 (66,7) nosac.vien., bet 12. mēn. – par 72,1%, t. i., līdz 21,7 (46,4) nosac. vien. ($p = 0,001$). Pētījuma beigās, t. i., 12. mēn., H_{maks} .

samazinājums bija statistiski ticami zemāks arī pret 3. mēn. 58,2 (68,6) nosac. vien. ($p = 0,010$) un 6. mēn. ($p = 0,043$).

Hemiluminiscences rādītāja $S_{oks.}$ jeb plazmas kopējās oksidējamības spējas (nosac. vien.) izmaiņas.

Hemiluminiscences rādītāja $S_{oks.}$ jeb plazmas kopējās oksidējamības spējas (nosac. vien.) izmaiņu rezultāti atainoti 3.5. attēlā.



3.5. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz hemiluminiscences rādītāju $S_{oks.}$ jeb plazmas kopējo oksidējamību
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 – IBF gr., 4 – Placebo gr.

VE + Se gr. statistiski ticami $S_{oks.}$ samazinājās no 3. mēn. 367 (507) nosac. vien. līdz 6. mēn. 259 (235) nosac. vien. par 29,4% ($p = 0,026$). 12. mēn. $S_{oks.}$ statistiski ticami samazinājās par 70%, t. i., no 478 (307) nosac. vien. līdz 140 (115) nosac. vien. ($p = 0,001$), salīdzinot ar 0 mēn. jeb sākuma posmu.

VE + Se + IBF gr. $S_{oks.}$ pētījuma beigās 104 (94) nosac. vien. statistiski ticami ($p < 0,001$) samazinājās, salīdzinot ar 0 mēn. 519 (260) nosac. vien. par 80%, salīdzinot ar 3. mēn. 307 (452) nosac. vien., – par 66% un, salīdzinot ar 6. mēn. 434 (344) nosac. vien., – par 76%. Salīdzinot ar Placebo gr., atšķirības bija pētījuma beigās tuvu statistiski ticamām ($p = 0,066$).

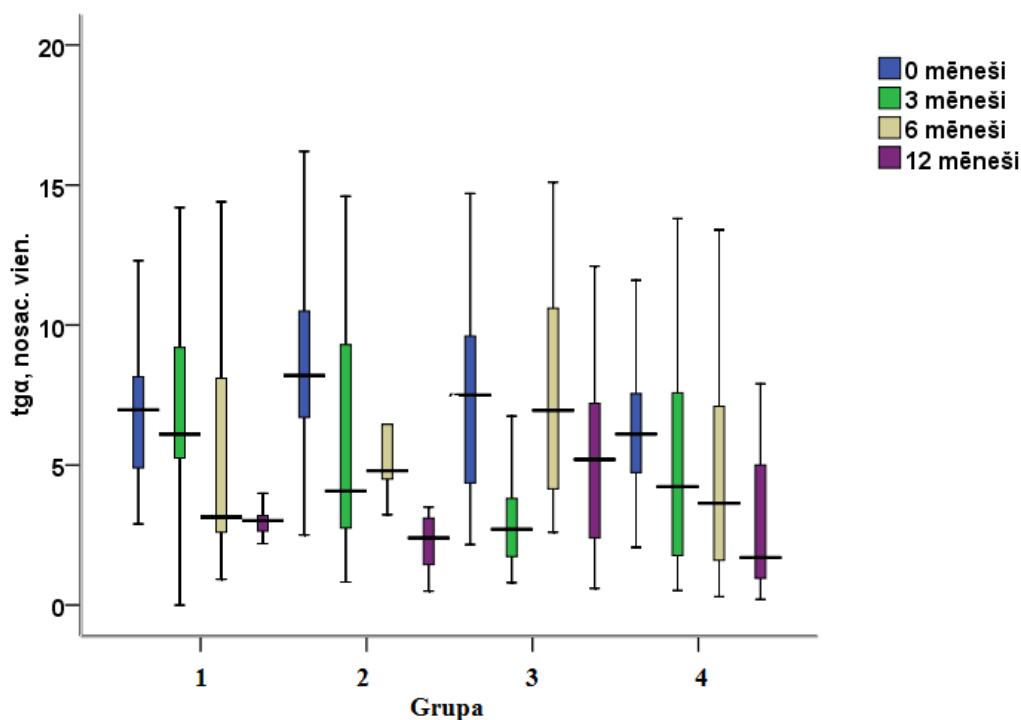
IBF gr., salīdzinot ar 0 mēn. 388 (375) nosac.vien., S_{oks} . statistiski ticami samazinājās 3. mēn. līdz 209 (155) nosac. vien., mazāk par 46,1% ($p = 0,022$). 6. mēn. 474 (242) nosac. vien. S_{oks} . statistiski ticami ($p = 0,019$) pieauga par 126%, salīdzinot ar 3. mēnesi. 12. mēn. 223 (289) nosac. vien. S_{oks} . statistiski ticami ($p = 0,015$) samazinājās par 53%, salīdzinot ar 6. mēnesi.

Salīdzinot ar *Placebo* gr., S_{oks} . 6. mēn. bija statistiski ticami ($p = 0,005$) augstāks IBF gr., bet 12. mēn.– augstāks tuvu statistiski ticamam ($p = 0,080$). Salīdzinot ar VE + Se gr., S_{oks} . 3. mēn. bija IBF gr. statistiski ticami ($p = 0,002$) zemāks, bet 6. mēn. statistiski ticami ($p = 0,012$) augstāks. Salīdzinot ar VE + Se + IBF gr., S_{oks} . IBF gr 3. mēn. bija. tuvu statistiski ticamam zemāks ($p = 0,077$).

Placebo gr., salīdzinot ar 0 mēn. 366 (284) nosac.vien., S_{oks} . statistiski ticami samazinājās 6. mēn. par 34,4%, t. i., līdz 240 (304) nosac. vien. ($p = 0,020$) un pētījuma beigās par 74% , t. i., līdz 95 (211) nosac. vien. ($p = 0,001$).

Hemiluminescences rādītāja tga jeb lipīdu peroksidācijas ātruma (nosac. vien.) izmaiņas.

Hemiluminescences rādītāja tga jeb lipīdu peroksidācijas ātruma (nosac. vien.) izmaiņu rezultāti atspoguļoti 3.6. attēlā.



3.6. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz hemiluminiscences rādītāja tga jeb lipīdu peroksidācijas ātrumu
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 –IBF gr., 4 – *Placebo* gr.

VE+Se gr. tga pētījuma beigās, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās par 56,7%, t. i., no 6,97 (4,34) līdz 3,02 (0,60) nosac. vien ($p = 0,001$).

VE + Se + IBF gr. tga pētījuma beigās, salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās par 70,7%, t. i., no 8,20 (4,35) līdz 2,40 (2,10) nosac. vien ($p = 0,001$). No 3. līdz 6. mēn. tga pieauga tuvu statistiski ticamam no 4,07 (6,81) līdz 4,80 (4,62) ($p = 0,062$).

No 6. mēn. līdz 12. mēn. tga samazināšanās bija tuvu statistiski ticamam ($p = 0,065$). Salīdzinot ar IBF gr., tga 3. mēn. VE + Se + IBF gr. bija tuvu statistiski ticamam augstāks ($p = 0,051$, bet 12. mēn. zemāks ($p = 0,059$).

IBF gr. tga statistiski ticami samazinājās 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, par 63,8%, t. i., no 7,50 (6,80) līdz 2,71 (2,52) nosac. vien. ($p = 0,006$). No 3. līdz 6. mēn. tga pieauga tuvu statistiski ticamam līdz 6,95 (6,82) nosac. vien. ($p = 0,055$). Salīdzinot ar *Placebo* gr. 6. un 12. mēn., tga IBF gr. bija statistiski ticami augstāks ($p = 0,027$; $p = 0,048$, attiecīgi). Salīdzinot ar VE + Se gr., tga 3. mēn. bija statistiski ticami zemāks ($p = 0,047$), bet 6. un 12. mēn. tuvu statistiski ticamam augstāks ($p = 0,076$; $p = 0,066$, attiecīgi).

Placebo gr. tga 6. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās par 40,4%, t. i., no 6,11 (3,00) līdz 3,64 (5,70) nosac. vien. ($p = 0,025$) un 12. mēn. par 72,2%, t. i., līdz 1,70 (4,30) nosac. vien. ($p = 0,005$).

3.1.6. Onkomarķieru daudzumu izmaiņas

Izvērtējot onkomarķierus (3.2. tabula) tika konstatēts, ka CEA daudzums pieauga *Placebo* un IBF gr., t. i., pētījumu grupās, kurās netika lietoti AO (VE, Se).

Placebo gr., ja salīdzina ar sākuma posmu, CEA daudzums pieauga tuvu statistiski ticamam 6. mēn. par 16,5% ($p = 0,07$), bet jau 12. mēn. statistiski ticami par 33% ($p = 0,00$).

IBF gr., ja salīdzina ar sākuma posmu, CEA daudzums statistiski ticami pieauga par 13% 12. mēn. ($p = 0,002$). 6. mēn. CEA daudzums pieauga, salīdzinot ar 3. mēn. par 11% ($p = 0,053$).

Pētījuma grupās VE + Se un VE + Se + IBF vislielākā tendence samazināties onkomarķiera CEA daudzumam, attiecīgi par 15% un 33%, salīdzinot ar sākuma posmu, bija 6. mēn., bet šīs izmaiņas nebija statistiski ticamas.

Onkomarķieris CEA visa pētījuma laikā bija statistiski ticami ($p = 0,031$; $p = 0,043$; $p = 0,021$; $p = 0,001$) zemāks VE + Se gr., salīdzinot ar IBF gr., bet salīdzinot ar *Placebo* gr. – 6. un 12. mēn. ($p = 0,027$ un $p = 0,001$, attiecīgi).

Onkomarķieru daudzumu izmaiņas pēc selēna, E vitamīna, ibuprofēna lietošanas

Grupa	Rādītājs	0 mēn.	3. mēn.	6. mēn.	12. mēn.
Placebo N = 20	CEA, ng/ml	1,94 (0,75)	1,91(1,36)	2,26 (1,0)	2,58 (0,83)* p < 0,001
	PSA, ng/ml	0,66 (0,69)	0,76 (0,90)	0,60 (0,68)	0,79 (0,79)* p = 0,001
	brīvais PSA, ng/ml	0,06 (0,08)	0,08 (0,07)	0,08 (0,07)	0,09 (0,10)* p = 0,008
	brīvais PSA/ PSA, %	12,4 (10,2)	14,1 (11,5)	11,7 (9,5)	13,0 (11,5)
IBF N = 20	CEA, ng/ml	2,26 (1,26)	1,97 (1,12)	2,19 (2,32)	2,56 (1,43) p = 0,002
	PSA, ng/ml	0,74 (0,46)	0,79 (0,57)	0,67 (0,80)	0,72 (0,62)
	brīvais PSA, ng/ml	0,12 (0,06)	0,10 (0,08)	0,10 (0,09)	0,11 (0,07)* p = 0,078
	Brīvais PSA/ PSA, %	13,3 (7,7)	13,9 (6,1)	12,1 (5,1)	13,9 (10,5)
VE + Se N = 20	CEA, ng/ml	1,60 (1,47)	1,47 (1,33)	1,36 (1,52)	1,61 (1,38)
	PSA, ng/ml	0,74 (0,90)	0,88 (0,81)	0,96 (0,82)	0,96 (0,69)
	Brīvais PSA, ng/ml	0,11 (0,09)	0,12 (0,10)	0,11 (0,06)	0,11 (0,09) ⁺ p = 0,097
	Brīvais PSA/ PSA, %	14,6 (13,0)	13,0 (8,1)* p = 0,020	11,7 (7,1)* p = 0,025	11,3 (9,6)* p = 0,02
VE + Se + IBF N = 20	CEA, ng/ ml	2,37 (1,94)	1,98 (2,09)	1,59 (1,69)	1,97 (2,01)
	PSA, ng/ml	0,99 (0,75)	0,97 (0,91)	0,94 (0,49)	1,09 (0,92)
	Brīvais PSA, ng/ml	0,12 (0,13)	0,13 (0,13)	0,12 (0,08)	0,14 (0,12)
	Brīvais PSA / PSA, %	12,8 (13,3)	11,4 (7,9)	10,9 (9,4)	11,6 (12,3)

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvarģļu intervāls). * Statistiski ticami atšķiras no 0 mēn.jeb izpētes sākuma, N – dalībnieku skaits.

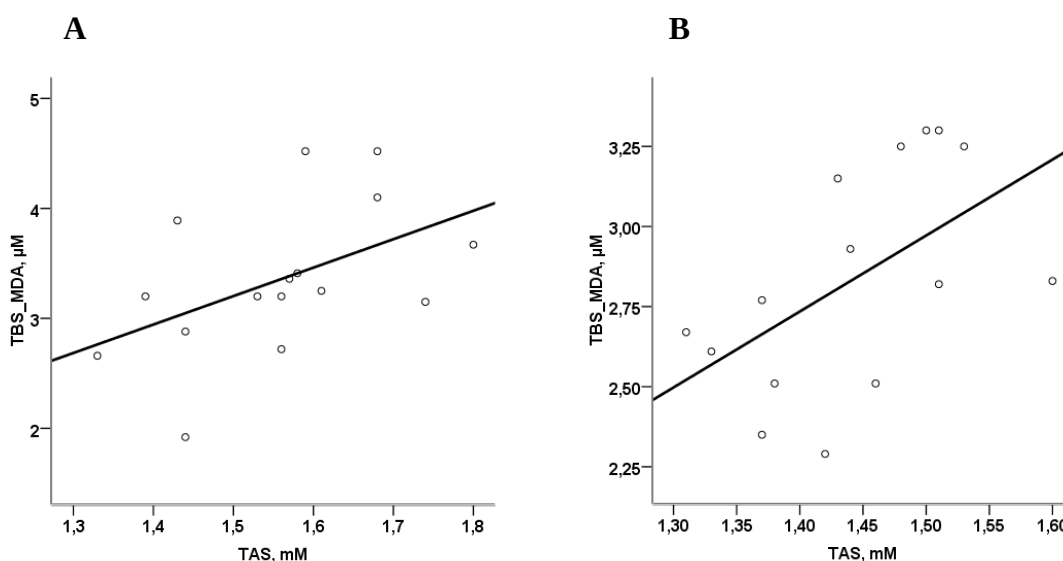
Onkomarķieris PSA visās pētījuma grupās bija normas robežās, lai gan *Placebo* gr. 12. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, tas statistiski ticami bija palielinājies (p = 0,001). IBF un VE + Se + IBF gr. PSA daudzums nemainījās, bet VE + Se gr. bija tendence palielināties,

sākot ar 6. mēn. par 30%. Brīvais PSA marķieris nemainījās visa pētījuma laikā. Zināms, ja brīvā PSA un PSA (%) attiecība ir $> 25 \%$, tad prostatas vēža iespējamība ir $< 10 \%$; ja brīvā PSA / PSA % attiecība ir $< 10 \%$, tad prostatas vēža iespējamība ir $> 80 \%$ un jārekomendē prostatas biopsija.

Pētījuma grupās, izņemot VE + Se gr., brīvā un kopējā PSA attiecība nemainījās un bija virs 10% (11,6–14,6 % robežās). Pētījuma grupā VE + Se, sākot ar 3. mēn., šī attiecība statistiski ticami sāka samazināties par 11% ($p = 0,02$), 6. mēn. par 20% ($p = 0,025$) un 12. mēn. par 23% ($p = 0,02$), paliekot virs 10% robežas. Šīs attiecības samazināšanās saistīta ar kopējā PSA daudzuma konstatēto tendenci paaugstināties.

3.1.7. Spīrmena korelācijas koeficienta (r_s) izmaiņas starp OS rādītājiem

Gan pētījuma sākumā, gan 3. mēnesī VE + Se gr. starp kopējiem antioksidantiem TAS un lipīdu peroksidācijas gala produkta TBS_MDA daudzumu bija pozitīva vidēji cieša korelācija (3.7. attēls). Pētījumā iegūtie TAS un TBS_MDA kvantitatīvie mērījumi (3.1. attēls un 3.1. tabula) parādīja, ka TAS daudzums statistiski ticami bija samazinājies, bet TBS_MDA daudzuma samazināšanās bija tuvu statistiski ticamam.



3.7. att. Korelācija starp TAS un TBS_MDA daudzumiem VE + Se grupā sākuma posmā (A) un 3. mēn. (B)

A: Korelācija: $r_s = 0,539$; $p = 0,031$.

B: Korelācija: $r_s = 0,629$; $p = 0,012$.

Starpt hemiluminiscences rādītājiem VE + Se gr. bija konstatētas statistiski ticamas ciešas pozitīvas korelācijas ($p < 0,001$) visā pētījuma periodā, izņemot starpt H_{maks} . un $tg\alpha$ 3. un 12. mēnesī. Korelācijas ticamība starpt S_{oks} . un $tg\alpha$ 12. mēn. bija $p = 0,040$ (3.3. tabula).

**Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp hemiluminiscences rādītājiem
VE + Se grupā**

Mēnesis	$H_{maks.} \text{ vs } S_{oks}$	$H_{maks.} \text{ vs } tga$	$S_{oks.} \text{ vs } tga$
0	0,946	0,895	0,901
3	0,999	0,180 ns	0,883
6	0,967	0,912	0,956
12	0,993	0,508 ns	0,514

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

**Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp rādītājiem VE+Se grupā
pētījuma 12. mēnesī**

Rādītājs	TBS_MDA	$S_{oks.}$	tga	VE
TBS_MDA	0,999	0,508 $p = 0,045$	0,979 $p < 0,001$	ns
TAS	0,707 $p = 0,002$	ns	0,715 $p = 0,003$	0,582 $p = 0,018$
Se	ns	ns	ns	0,506 $p = 0,038$

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$

VE + Se gr. visi LPO rādītāju kvantitatīvie mērījumi 12. mēn. statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar sākuma posmu (3.1. tabula, 3.4., 3.5. un 3.6. attēls) un, kā redzams 3.4. tabulā, starp TBS_MDA un hemiluminiscences rādītājiem, kā plazmas kopējās oksidējamības spēja $S_{oks.}$ pastāvēja pozitīva vidēji cieša korelācija, bet ar lipīdu peroksidācijas ātruma rādītāju tga cieša pozitīva korelācija. E vitamīna un Se daudzums pētījuma beigās statistiski ticami palielinājās, salīdzinot ar sākuma posmu, kad izpaudās vidēji ciešā pozitīvā korelācijā. Lai gan TAS daudzums pētījuma beigās bija augsts un LPO rādītāji statistiski ticami samazinājās, tomēr starp TAS un hemiluminiscences rādītāju tga bija konstatēta pozitīva cieša sakarība. Atšķirībā no izpētes sākuma un 3. mēn., kad starp TAS un TBS_MDA bija vidēji cieša korelācija, pētījuma beigās šī korelācija bija cieša. Pētījuma beigās, pieaugot VE daudzumam, pieauga arī TAS daudzums, kas izpaudās pozitīvā vidēji ciešā korelatīvā saistībā. Rezultāti liecina, ka 12. mēn. vienlaicīgi pieauga plazmas hidrofilo AO daudzums un lipofila AO – VE, kurš darbojas uz šūnu membrānām.

Starp hemiluminiscences rādītājiem VE + Se + IBF gr. bija konstatēta statistiski ticama cieša pozitīva korelācija ($p < 0,001$) visā pētījuma periodā (3.5. tabula).

**Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp hemiluminiscences rādītājiem
VE + Se + IBF grupā**

Mēnesis	H_{maks.} vs S_{oks}	H_{maks.} vs tga	S_{oks.} vs tga
0	0,987	0,855	0,806
3	1,000	0,946	0,946
6	0,817	0,663	0,885
12	0,971	0,978	0,956

Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp OS rādītājiem VE+Se+IBF grupā

Rādītājs	0 mēn.		6. mēn.		12. mēn.	
	r_s	p	r_s	p	r_s	p
H _{maks.} vs TAS	-0,584	0,005	ns		ns	
S _{oks.} vs TAS	-0,537	0,021	ns		ns	
tga vs TAS	-0,586	0,014	ns		ns	
TBS_MDA vs TAS	ns		0,467	0,044	0,724	< 0,01
VE vs Se	ns		0,534	0,021	ns	
H _{maks.} vs VE	ns		0,613	0,005	ns	
H _{maks.} vs TBS_MDA	ns		ns		0,466	0,044
S _{oks.} vs TBS_MDA	ns		ns		0,479	0,039
tga vs TBS_MDA	ns		ns		0,520	0,023

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

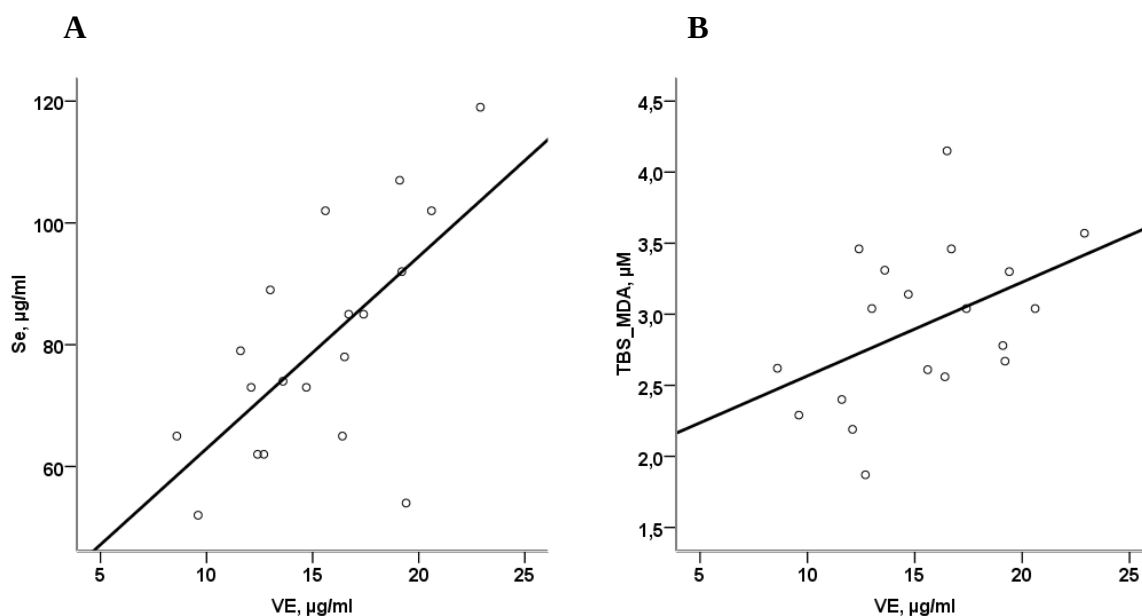
Pētījuma sākumā pastāvēja ticamas vidēji ciešas negatīvas korelācijas starp lipīdu peroksīdiem – H_{maks.}, plazmas kopējās oksidējamības spēju – S_{oks.} un kopējiem antioksidantiem – TAS (3.6. tabula), kas liecina, ka VE + Se + IBF grupā pētījuma sākumā nepietiekama hidrofilo antioksidantu daudzuma apstākļos, palielinās plazmas kopējās oksidējamības spēja un līdz ar to pieaug lipīdu peroksīdu daudzums. Ja TAS daudzums pētījuma sākumā korelēja negatīvi ar LPO rādītājiem, tad 6. un 12. mēn. korelācija ar LPO rādītāju TBS_MDA bija pozitīva.

Pētījuma 6. mēn., pieaugot LPO rādītājam H_{maks.}, pieauga VE daudzums, par ko liecina statistiski ticama vidēji cieša pozitīva korelācija starp šiem rādītājiem. Starp VE un Se konstatētā vidēji ciešā pozitīvā korelācija liecināja par abu rādītāju sinerģistisko darbību.

Pētījuma 12. mēn. vidēji cieša korelācija bija starp TBS_MDA un visiem hemiluminiscences rādītājiem.

IBF gr. sākuma posmā ticama korelatīvā saistība bija tikai starp hemiluminiscences rādītājiem (3.6. tabula). Nākamajā pētījuma posmā, t. i., 3. mēn. IBF gr. VE daudzums vidēji cieši pozitīvi korelēja ar Se daudzumu, kas liecina par to sinerģistisko efektu (3.8. attēls). Pētot VE un TBS_MDA kvantitatīvos mērījumus, bija konstatēts, ka VE daudzums 3. mēn.

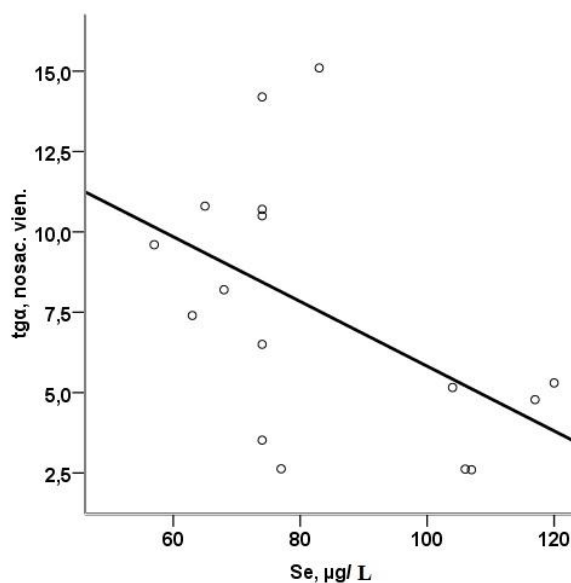
pieauga, bet TBS_MDA daudzuma samazinājums bija tuvu statistiski ticamam. Konstatētā vidēji ciešā pozitīvā korelācija starp TBS_MDA daudzumu un VE norāda, ka VE pieauga kā kompensatoriska atbilde uz TBS_MDA pieaugumu, lai mazinātu lipīdu peroksidācijas gala produktu veidošanos.



3.8. att. Korelācija starp Se (A) vai TBS_MDA (B) daudzumu un VE IBF grupā 3. mēn.

A: Korelācija: $r_s = 0,563$; $p = 0,009$.

B: Korelācija: $r_s = 0,506$; $p = 0,027$.



3.9. att. Korelācija starp Se un tga IBF grupā 6. mēn.

Korelācija: $r_s = -0,525$; $p = 0,037$.

IBF gr. pētījuma 6. mēn. starp Se un tga bija konstatēta vidēji cieša negatīva korelācija, kas liecina, ka, samazinoties Se daudzumam, pieaug lipīdu peroksidācijas ātrums (3.9. attēls).

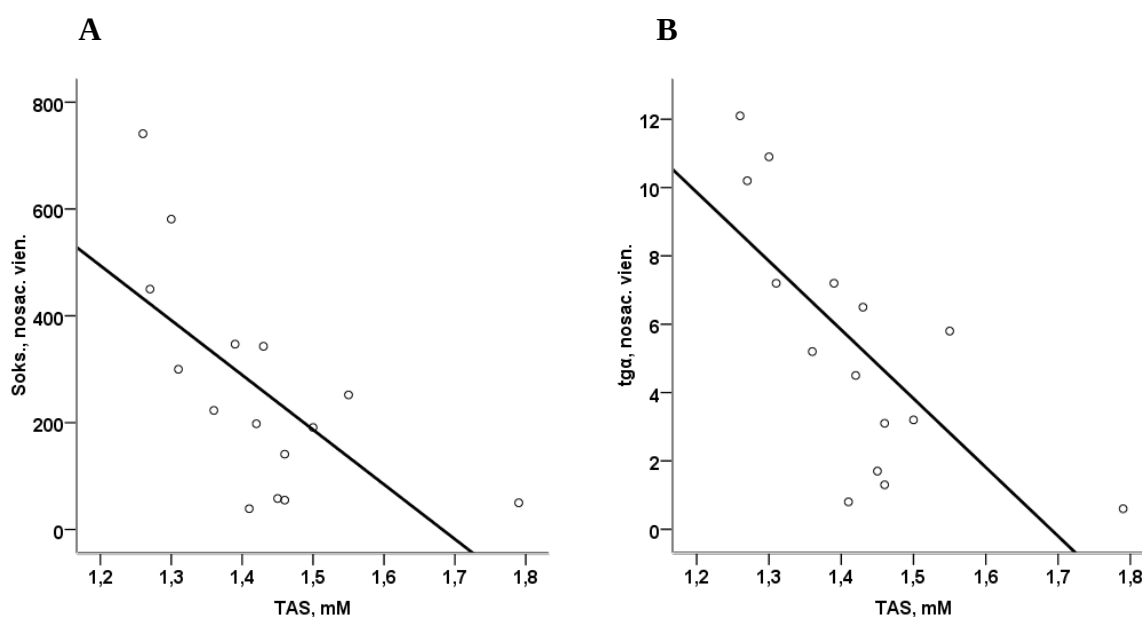
3.7. tabula

Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp hemiluminiscences rādītājiem IBF grupā

Mēnesis	H _{maks.} vs S _{oks}	H _{maks.} vs tga	S _{oks.} vs tga
0	0,998	0,952	0,946
3	0,998	0,963	0,918
6	0,800	0,702	0,855
12	0,971	0,978	0,990

IBF gr. starp hemiluminiscences rādītājiem bija konstatēta statistiski ticama cieša pozitīva korelācija ($p < 0,001$) visā pētījuma periodā (3.7. tabula).

Pētījuma beigās IBF gr. – cieša negatīva korelācija starp TAS un hemiluminiscences rādītājiem – S_{oks}. ($r_s = -0,704$; $p = 0,003$) un tga ($r_s = -0,755$; $p = 0,001$) liecina, ja ir nepietiekams AO daudzums, palielinās plazmas kopējās oksidējamības spēja S_{oks}. un palielinās lipīdu peroksidācijas ātrums tga (3.10. attēls).

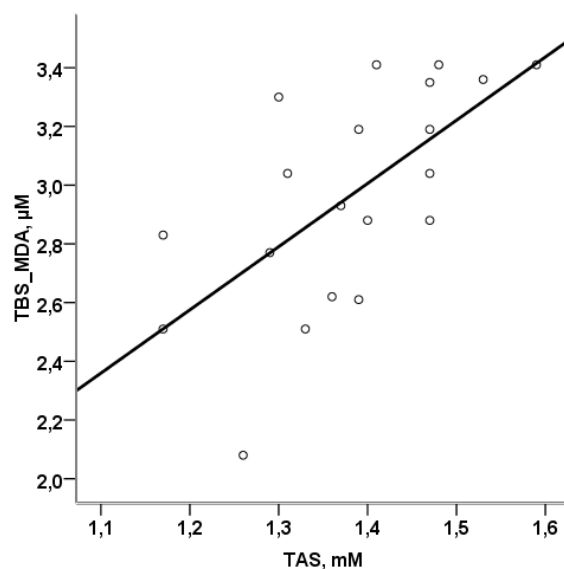


3.10. attēls. Korelācija starp S_{oks}. (A) vai tga (B) un TAS IBF grupā 12. mēn.

A: Korelācija: $r_s = -0,704$; $p = 0,003$.

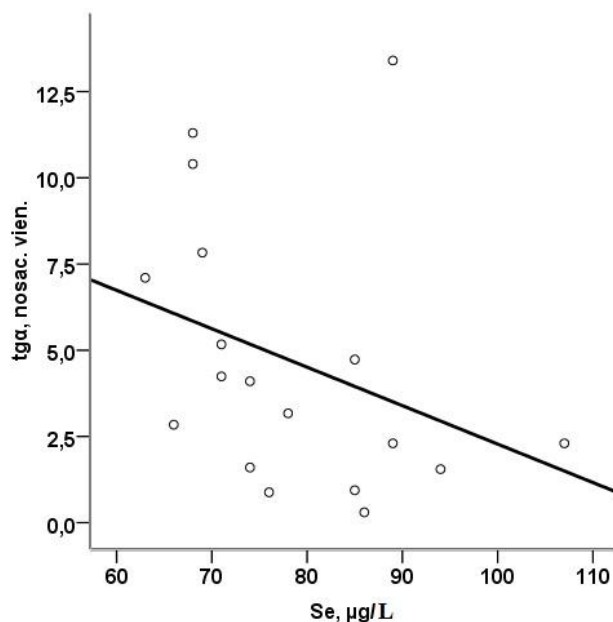
B: Korelācija: $r_s = -0,755$; $p = 0,001$.

Cieša pozitīva korelācija bija konstatēta pētījuma sākumā *Placebo* gr. starp TAS daudzumu un lipīdu peroksidācijas rādītāju TBS_MDA (3.11. attēls).



3.11. att. **Korelācija starp TBS_MDA un TAS daudzumiem**
Placebo grupā sākuma posmā
 Korelācija: $r_s = 0,716$; $p < 0,01$.

Placebo gr. pētījuma 6. mēn. starp Se un tga bija konstatēta vidēji cieša negatīva korelācija, kas liecina, ka, samazinoties Se daudzumam, pieaug lipīdu peroksidācijas ātrums (3.12. attēls).



3.12. att. **Korelācija starp tga un Se rādītājiem Placebo grupā 6. mēn.**
 Korelācija: $r_s = -0,487$; $p = 0,040$.

Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) starp hemiluminiscences rādītājiem *Placebo* grupā

Mēnesis	$H_{maks.}$ vs S_{oks}	$H_{maks.}$ vs tga	$S_{oks.}$ vs tga
0	0,846	0,984	0,845
3	0,998	0,983	0,961
6	0,996	0,899	0,913
12	0,991	0,993	0,980

Starp hemiluminiscences rādītājiem *Placebo* gr. bija konstatēta statistiski ticama cieša pozitīva korelācija ($p < 0,001$) visā pētījuma periodā (3.8. tabula).

Placebo gr. korelatīvās saistības starp onkomarķieri PSA un OS rādītājiem bija konstatētas sākuma posmā un 3. mēn.(3.9. tabula), bet IBF gr. starp onkomarķieri CEA un OS rādītājiem 6. un 12. mēn.(3.13. un 3.14. attēls).

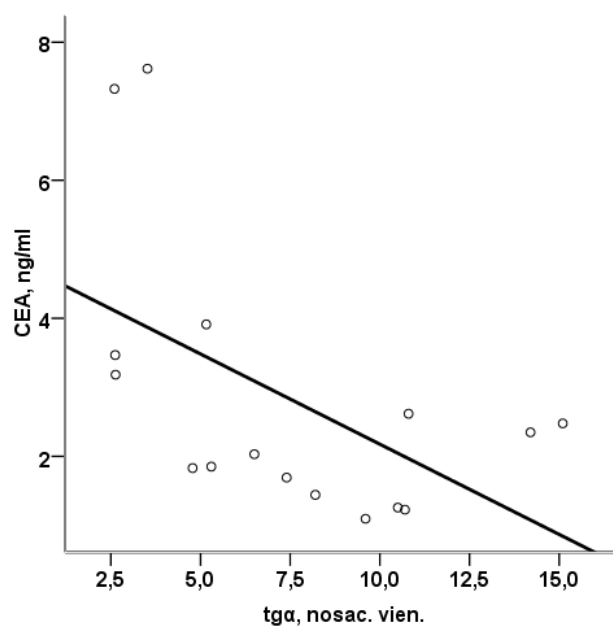
Placebo gr. pētījuma sākumā bija konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija starp onkomarķieri PSA un lipīdu peroksīdiem $H_{maks.}$ un plazmas kopējo oksidējamību $S_{oks.}$ Pētījuma 3. mēn. korelācija saglabājās ar plazmas kopējo oksidējamību

Korelatīvās saistības starp onkomarķieri PSA un lipīdu peroksidācijas rādītājiem *Placebo* grupā

Rādītājs	0 mēn.		3. mēn.	
	r_s	p	r_s	p
$H_{maks.}$	0,588	0,035	ns	
$S_{oks.}$	0,483	0,031	0,487	0,048

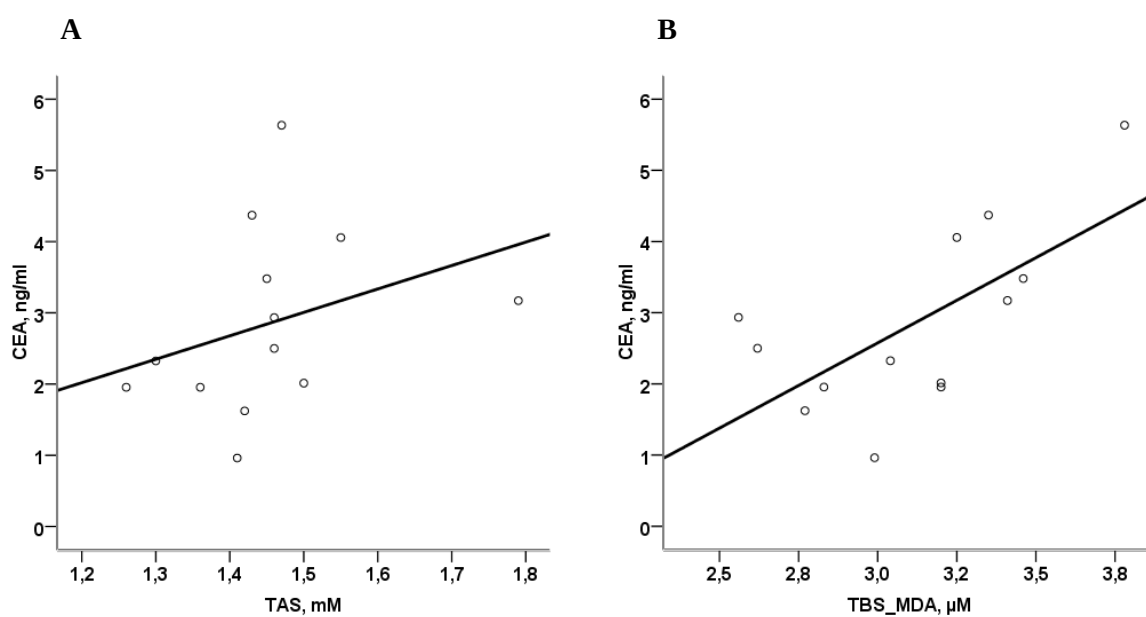
ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

IBF gr. korelācijas starp onkomarķieri PSA un OS rādītājiem nebija konstatētas. Pētījuma 6. mēn. bija konstatēts, ka starp lipīdu oksidācijas ātrumu tga un onkomarķieri CEA pastāvēja negatīva vidēji cieša korelācija (3.13. attēls). Pētījuma 12. mēn. pastāvēja pozitīva vidēji cieša korelācija ar kopējiem plazmas antioksidantiem TAS un LPO gala produktu TBS_MDA (3.14. attēls). Kvantitatīvie mērījumi parādīja, ka šajā laika posmā CEA daudzums statistiski ticami bija palielinājies (3.2. tabula), salīdzinot ar sākuma posmu, bet TBS_MDA (3.1. tabula) un TAS (3.1. attēls) daudzumi pēc IBF lietošanas nebija mainījušies.



3.13. att. Korelācija starp tga un CEA IBF grupā 6. mēn.

Korelācija: $r_s = -0,532$; $p = 0,034$.



3.14. att. Korelācija starp TAS (A) vai TBS_MDA (B) un CEA IBF grupā 12. mēn.

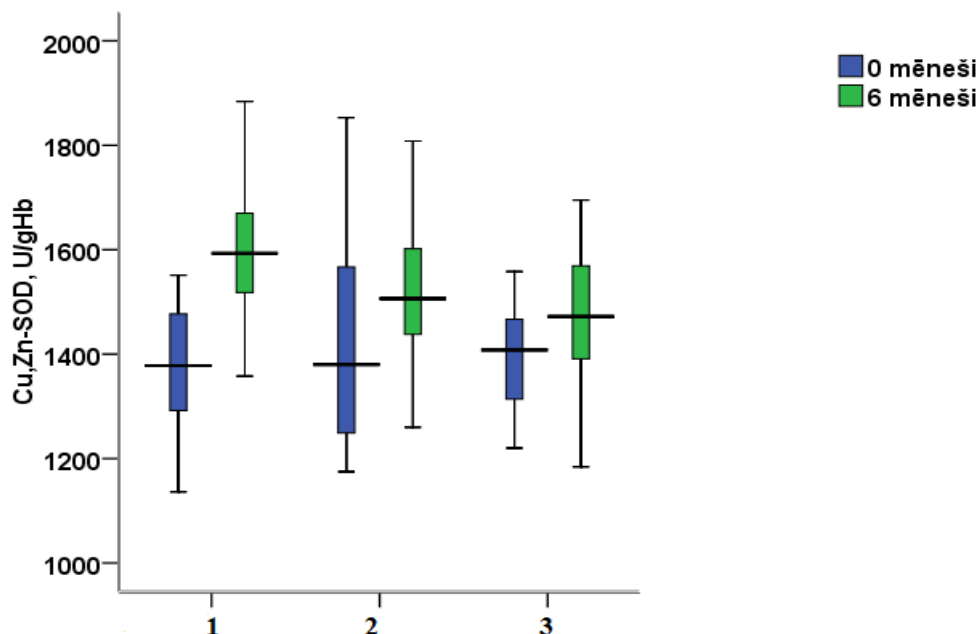
A: Korelācija: $r_s = 0,550$; $p = 0,035$.

B: Korelācija: $r_s = 0,643$; $p = 0,034$.

3.2. II pētījums

3.2.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas atainotas 3.15. attēlā.



3.15. att. Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz Cu, Zn-SOD aktivitāti

1 – Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr., 2 – Se + KoQ₁₀ gr., 3 – KoQ₁₀ + IBF + Om gr.

Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupas Cu, Zn-SOD aktivitāte 6. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami palielinājās par 15,6%, t. i., no 1378 (195) līdz 1593 (171) U/gHb ($p < 0,0001$).

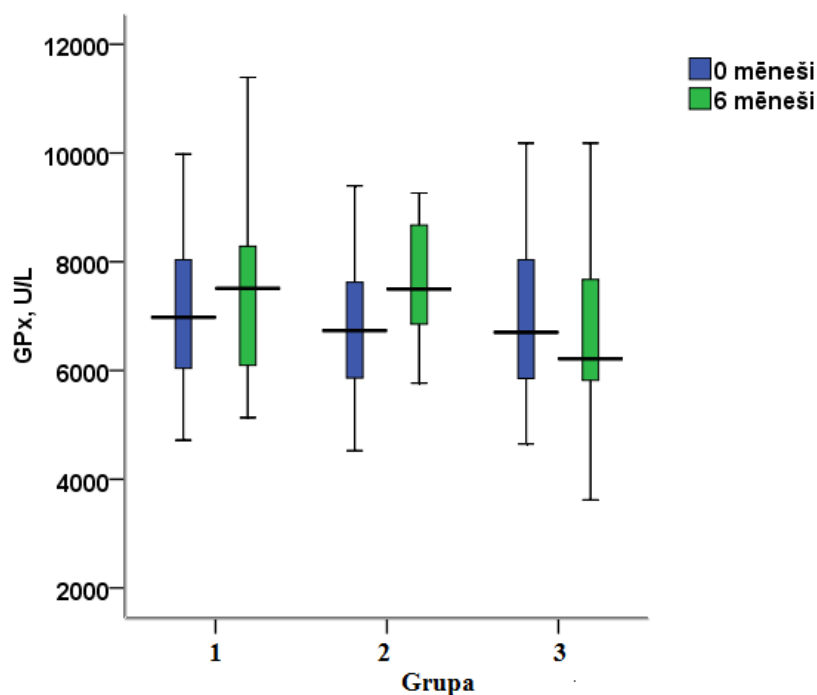
Se + KoQ₁₀ gr. Cu, Zn-SOD aktivitāte 6. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami palielinājās par 9,1 %, t. i., no 1380 (334) līdz 1506 (178) U/gHb ($p = 0,048$).

KoQ₁₀ + IBF + Om gr. Cu, Zn-SOD aktivitāte nemainījās, t. i., sākuma posmā tā bija 1408 (176) U/gHb, bet pētījuma beigās 1471(211) U/gHb.

Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. Cu, Zn-SOD aktivitāte bija statistiski ticami augstāka, salīdzinot ar Se + KoQ₁₀ gr. ($p = 0,043$) un KoQ₁₀ + IBF + Om gr. ($p = 0,013$).

3.2.2. Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas

KoQ₁₀ + IBF + Om gr., kurai nebija ordinēts Se, GPx aktivitāte statistiski ticami samazinājās par 7,3% , t. i., no 6704 (2341) līdz 6216 (2213) U/L ($p = 0,011$). Pārējās grupās GPx aktivitātei bija tendence palielināties (3.16. attēls).



3.16. att. Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz glutationperoksidāzes (GPx) aktivitāti
1 – Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr., 2 – Se + KoQ₁₀ gr., 3 – KoQ₁₀ + IBF + Om gr.

KoQ₁₀ + IBF + Om gr. GPx aktivitāte 6. mēn. bija tuvu statistiski ticami zemāka nekā Se + KoQ₁₀ gr. ($p = 0,072$).

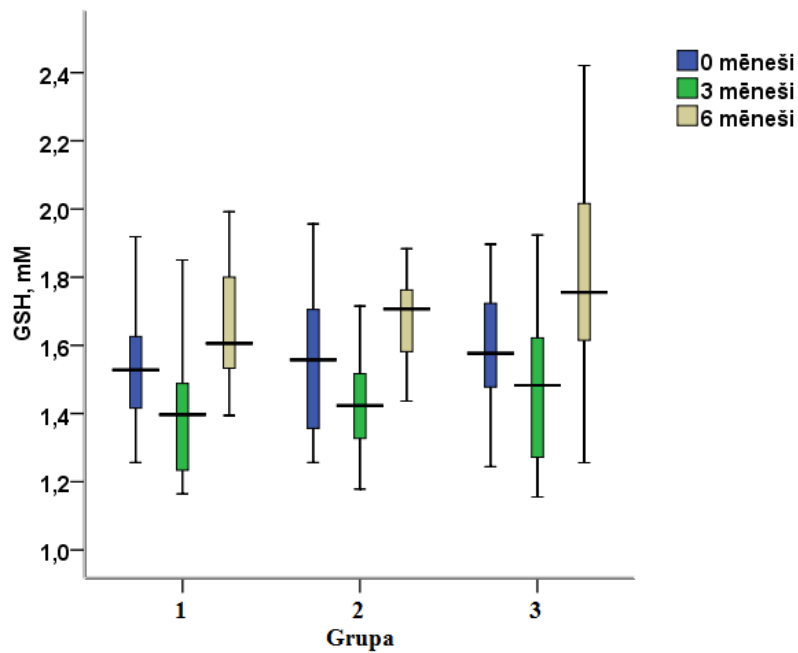
3.2.3. Reducētā glutatona daudzuma izmaiņas

Reducētā glutatona daudzuma izmaiņas atainotas 3.17. attēlā.

Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. GSH daudzums 3. mēn. statistiski ticami samazinājās par 8,5%, t. i., no 1,53 (0,23) līdz 1,40 (0,27) mM ($p = 0,009$) un KoQ₁₀ + IBF + Om gr. – par 6,3%, t. i., no 1,58 (0,28) līdz 1,48 (0,36) mM ($p = 0,003$).

Pētījuma 6. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu (0 mēn.), GSH daudzums Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. statistiski ticami palielinājās par 5,2%, t. i., no 1,53 (0,23) līdz 1,61 (0,28) mM ($p = 0,025$); Se + KoQ₁₀ gr. – par 9,6%, t. i., no 1,56 (0,38) līdz 1,71 (0,20) mM ($p = 0,001$); KoQ₁₀ + IBF + Om gr. – par 11,4%, t. i., no 1,58 (0,28) līdz 1,76 (0,44) mM ($p = 0,003$).

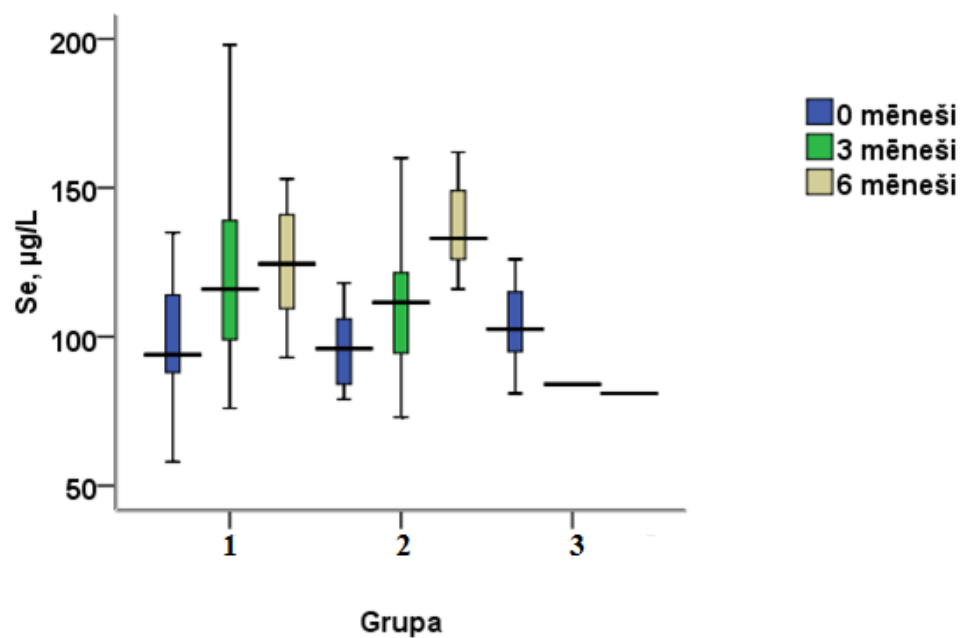
Atšķirības starp Se + KoQ₁₀ + IBF + Om un KoQ₁₀ + IBF + Om gr. 6. mēn. bija tuvu statistiski ticamām ($p = 0,066$).



3.17. att. Selēna, koenzīma Q_{10} un ibuprofēna lietošanas ietekme uz reducētā glutationa (GSH) daudzuma izmaiņām
1 – Se + Ko Q_{10} + IBF + Om gr., 2 – Se + Ko Q_{10} gr., 3 – Ko Q_{10} + IBF + Om gr.

3.2.4. Selēna daudzuma izmaiņas

Selēna daudzuma izmaiņas atspoguļotas 3.18. attēlā.



3.18. att. Selēna (Se), koenzīma Q_{10} un ibuprofēna lietošanas ietekme uz Se daudzuma izmaiņām
1 – Se + Ko Q_{10} + IBF + Om gr., 2 – Se + Ko Q_{10} gr., 3 – Ko Q_{10} + IBF + Om gr.

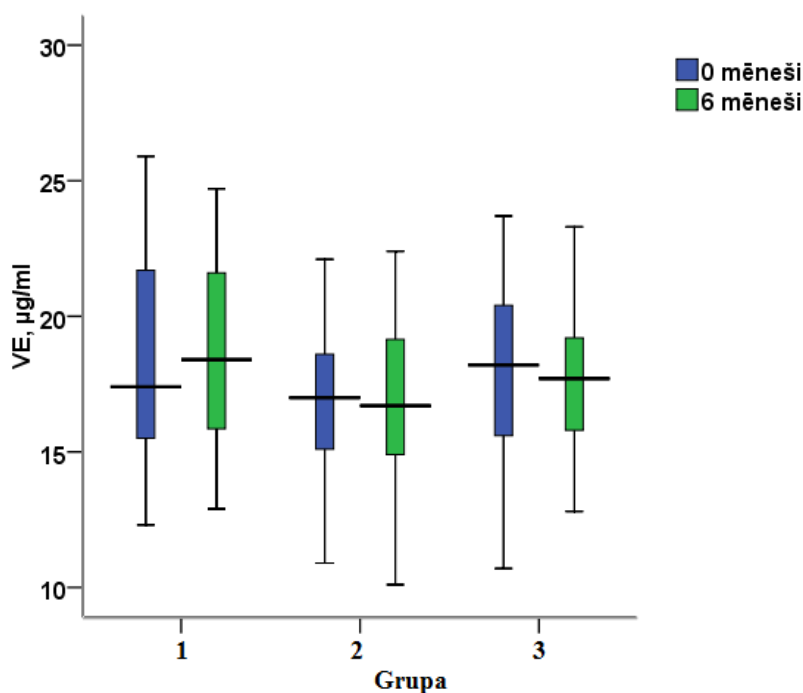
Se + KoQ₁₀ gr. Se daudzums statistiski ticami palielinājās, salīdzinot ar sākuma posmu, 3. mēn. par 16%, t. i., no 96,0 (24,0) līdz 111,5 (28,5) µg/L (p = 0,033) un 6. mēn. – par 38% , t. i., līdz 133,0 (27,0) µg/L (p = 0,008).

Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. Se daudzums statistiski ticami palielinājās 6. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu par 32,4%, t. i., no 94,0 (29,5) līdz 124,5 (34,8) µg/L (p = 0,011).

KoQ₁₀ + IBF + Om gr. Se daudzums statistiski ticami nemainījās, t. i., sākuma posmā tas bija 103 (23) µg/L, 3. mēn. samazinājās par 18,4%, t. i., līdz 84,0 (0) µg/L un 6. mēn. samazinājās par 21,4%, t. i., līdz 81 (0) µg/L.

3.2.5. E vitamīna daudzuma izmaiņas

E vitamīna daudzums pētījuma laikā nemainījās un palika references lielumu robežās (3.19. attēls).



3.19. att. Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz E vitamīna (VE) daudzuma izmaiņām

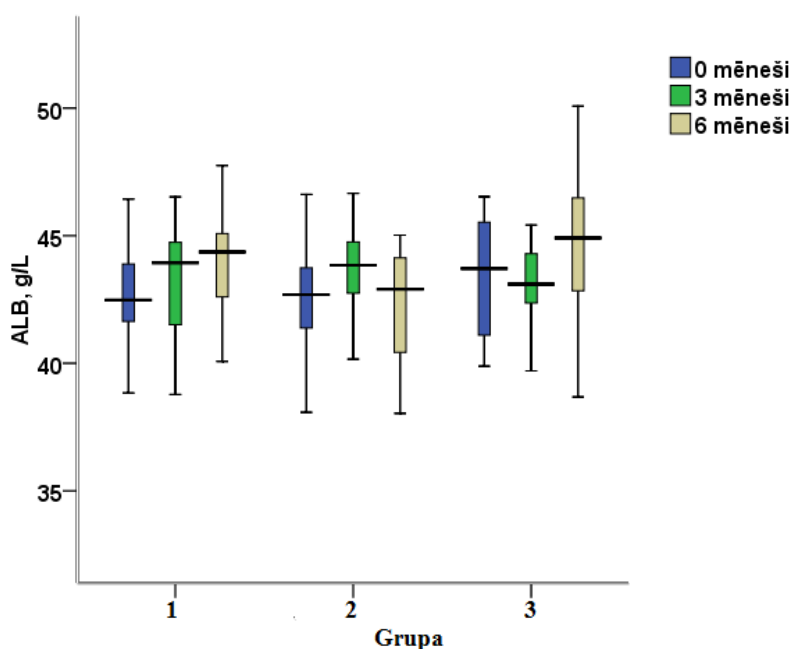
1 – Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr., 2 – Se + KoQ₁₀ gr., 3 – KoQ₁₀ + IBF + Om gr.

3.2.6. Albumīna daudzuma izmaiņas

3.20. attēlā redzams, ka ALB daudzums statistiski ticami ($p = 0,019$) palielinājās 3. mēn. Se+ KoQ₁₀ gr. no 42,69 (2,47) līdz 43,84 (2,40) g/L, bet pētījuma beigās nebija konstatētas statistiski ticamas izmaiņas.

Pārējās grupās 3. mēn. ALB daudzuma izmaiņas nebija statistiski ticamas, bet 6. mēn. izmaiņas bija tuvu statistiski ticamām. Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. 6. mēn. ALB daudzums palielinājās statistiski tuvu ticamam, t. i., no 42,48 (2,49) līdz 44,36 (3,58) g/L ($p = 0,055$), bet KoQ₁₀ + IBF + Om gr. – no 43,71 (4,55) līdz 44,91 (4,24) g/L ($p = 0,065$).

Salīdzinot grupas savā starpā, ALB daudzums KoQ₁₀ + IBF + Om gr. bija statistiski ticami augstāks nekā Se + KoQ₁₀ gr. ($p = 0,037$).



3.20. att. Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz albumīna (ALB) daudzuma izmaiņām

1 – Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr., 2 – Se + KoQ₁₀ gr., 3 – KoQ₁₀ + IBF + Om gr.

3.2.7. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas

3.10. tabula

Malondialdehīda un 4-hidroksinonenāla daudzuma izmaiņas

Grupa	MDA(μ M)			4-HNE(μ M)		
	N	0 mēn.	6. mēn.	N	0 mēn.	6. mēn.
Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	25	1,88 (0,68)	1,65 (0,64)* p = 0,050	13	4,62 (5,07)	2,41 (3,64)
Se + KoQ ₁₀	21	1,80 (1,00)	1,85 (0,50)	15	4,62 (7,54)	4,03 (10,14)* p = 0,043
KoQ ₁₀ + IBF + Om	25	2,25 (0,70)	1,59 (0,59)* p = 0,005	18	4,08 (4,96)	2,40 (8,56)

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). *Statistiski ticami atšķiras no 0 mēneša.

3.10. tabulā parādīts, ka MDA daudzums statistiski ticami samazinājās 6. mēn. Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. un KoQ₁₀ + IBF + Om gr. (p = 0,05 un p = 0,005, attiecīgi). Se + KoQ₁₀ gr. MDA daudzums nemainījās.

Salīdzinot grupas savā starpā, bija konstatēts, ka MDA daudzums pētījuma sākumā KoQ₁₀ + IBF + Om gr. bija statistiski ticami augstāks nekā Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. (p = 0,049), un Se + KoQ₁₀ gr. – tuvu statistiski ticamam (p = 0,076).

4-hidroksinonenāla daudzums statistiski ticami samazinājās 6. mēn. Se + KoQ₁₀ gr. (p = 0,043). Se + KoQ₁₀ + IBF + Om un KoQ₁₀ + IBF + Om gr. bija konstatēta tendence 4-HNE daudzumam samazināties.

Aldehīdu summas MDA + 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties visās pētījuma grupās.

3.2.8. Bioķīmisko un onkomarkķieru rādītāju izmaiņas

3.11. tabulā parādīts, ka holesterīna daudzums statistiski ticami nemainījās. Triglicerīdu daudzums Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. palielinājās par 22%, bet KoQ₁₀ + IBF + Om gr. samazinājās par 32%, tomēr šīs izmaiņas nebija statistiski ticamas. Salīdzinot savā starpā grupas, bija konstatēts, ka pētījuma sākumā KoQ₁₀ + IBF + Om gr. TRG saturs bija statistiski ticami augstāks nekā Se + KoQ₁₀ gr. (p = 0,034).

Augsta blīvuma lipoproteīdi KoQ₁₀ + IBF + Om gr. statistiski ticami samazinājās (p = 0,050) 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, bet 6. mēn. statistiski ticami palielinājās, salīdzinot ar 3. mēn. un sasniedzot sākuma līmeni.

Zema blīvuma lipoproteīdi Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. pētījuma beigās statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar sākuma posmu.

Karcinoembriālais antigēns (CEA) Se+ KoQ₁₀ gr. palielinājās 3. mēn. (p = 0,037).

Statistiski ticamas izmaiņas nebija konstatēts prostatas specifiskā antigēna (PSA) un brīvā prostatas specifiskā antigēna (brīvais PSA) daudzuma izmaiņās.

3.11. tabula

Bioķīmisko un onkomarkķieru rādītāju izmaiņas

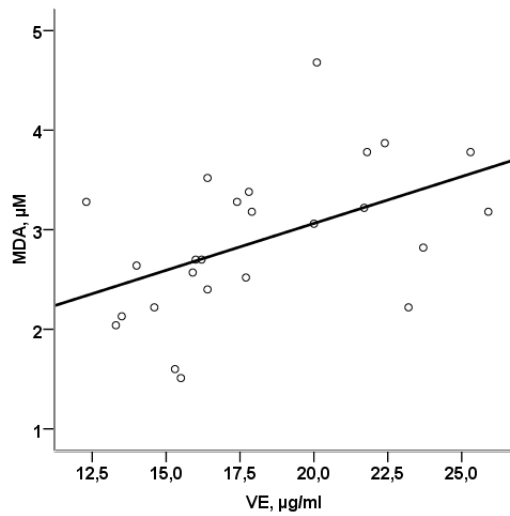
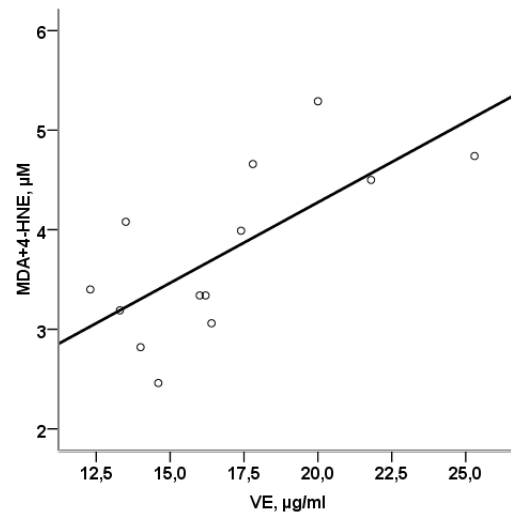
Rādītājs	Grupas	0 mēn.	3. mēn.	6. mēn.
Holesterīns mmol/L	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	5,68 (1,68)	5,72 (1,37)	5,59 (1,49)
	Se + KoQ ₁₀	5,70 (1,34)	5,50 (1,47)	5,42 (1,64)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	5,29 (1,12)	5,43 (1,49)	5,36 (12,9)
Triglicerīdi mmol/L	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	1,48 (2,08)	1,72 (0,77)	1,81 (1,44)
	Se + KoQ ₁₀	1,22 (0,85)	1,50 (0,98)	1,20 (1,09)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	1,95 (1,66)	2,02 (1,80)	1,32 (1,64)
ABL mmol/L	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	1,22 (0,49)	1,17 (0,49)	1,25 (0,20)
	Se + KoQ ₁₀	1,15 (0,66)	1,17 (0,48)	1,13 (0,32)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	1,32 (0,49)	1,24 (0,33)* p = 0,051	1,3 (0,34)# p = 0,009
ZBL mmol/L	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	3,54 (1,71)	3,94 (1,51)	3,44 (1,51) p = 0,035
	Se + KoQ ₁₀	3,73(1,35)	3,47 (1,68)	3,44 (1,32)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	3,59(0,83)	3,77 (1,59)	3,70 (1,37)
CEA, ng/ml	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	1,85 (1,25)	1,75(1,40)	1,73 (1,32)
	Se + KoQ ₁₀	1,34 (1,49)	1,48 (1,38) * p = 0,037	1,56(1,52)
	KoQ ₁₀ +IBF+Om	1,86 (2,05)	1,94 (2,28)	1,91(2,14)
PSA, ng/ml	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	0,83 (0,75)	0,79 (0,79)	0,77 (0,96)
	Se + KoQ ₁₀	1,07 (0,89)	1,04 (0,89)	0,92 (0,99)
	KoQ ₁₀ +IBF+Om	1,10 (0,98)	1,22 (1,01)	1,16 (0,87)
brīvais PSA, ng/ml	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	0,09 (0,08)	0,11 (0,08)	0,08 (0,08)
	Se + KoQ ₁₀	0,11 (0,08)	0,10 (0,11)	0,11 (0,09)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	0,11 (0,08)	0,11 (0,10)	0,11 (0,08)
brīvais PSA / PSA, %	Se + KoQ ₁₀ + IBF + Om	11,60 (4,02)	10,80 (7,30)	9,73 (4,87)
	Se + KoQ ₁₀	11,85 (8,51)	12,24 (6,91)	11,92 (8,20)
	KoQ ₁₀ + IBF + Om	10,90(9,03)	12,30 (9,99)	10,72 (8,91)

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). *Statistiski ticami atšķiras no 0 mēn.

Statistiski ticami atšķiras no 3. mēn.

3.2.9. Spīrmena korelācijas koeficienta (r_s) izmaiņas starp OS rādītājiem

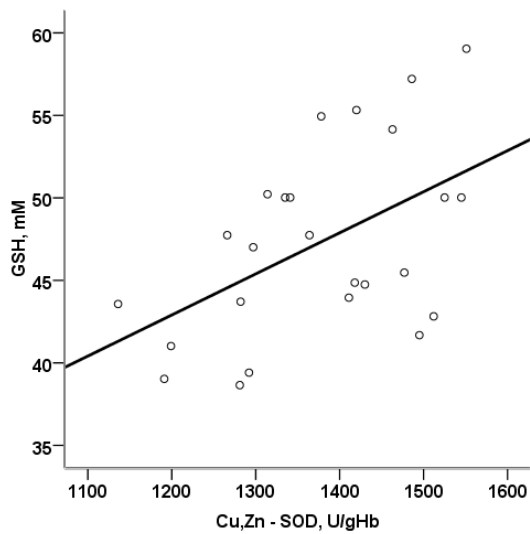
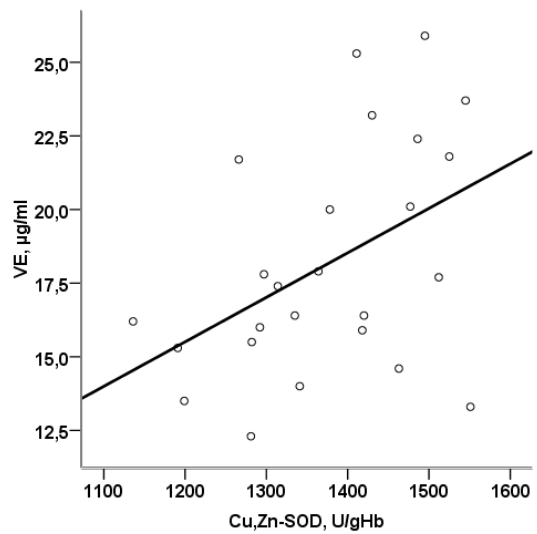
Pētījuma sākumā Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. tika konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija starp aldehīdiem MDA, MDA + 4-HNE un VE daudzumu (3.21. attēls) un pozitīva vidēji cieša korelācija starp AOS enzīmu Cu, Zn-SOD un hidrofilo un lipofilo AO, t. i., GSH un VE (3.22. attēls).

A**B**

3.21. att. **Korelācija starp MDA (A) vai MDA + 4-HNE (B) un VE daudzumiem**
Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā sākuma posmā

A: Korelācija: $r_s = 0,557$; $p = 0,004$.

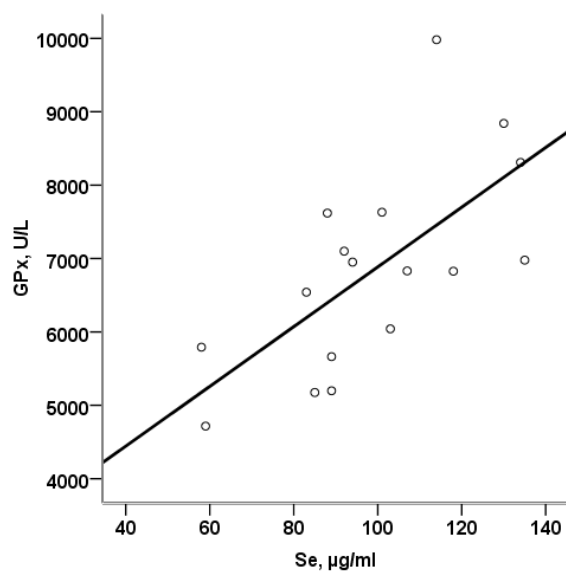
B: Korelācija: $r_s = 0,630$; $p = 0,021$.

A**B**

3.22. att. **Korelācijas starp GSH (A) vai VE (B) un Cu, Zn-SOD**
Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā sākuma posmā

A: Korelācija: $r_s = 0,494$; $p = 0,012$.

B: Korelācija: $r_s = 0,432$; $p = 0,031$.

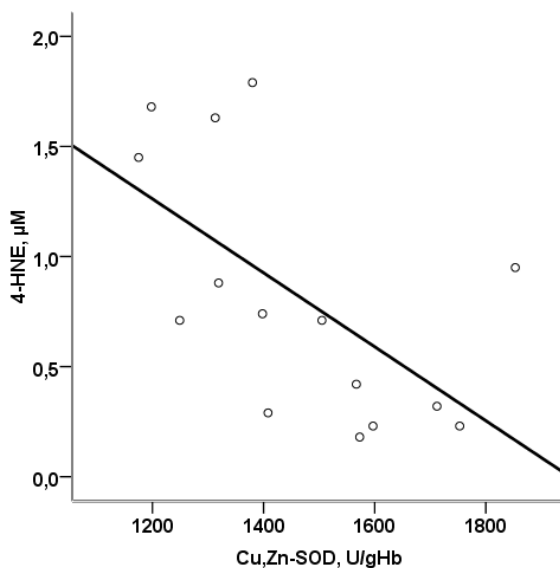


3.23. att. **Korelācija starp Se un GPx Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā sākuma posmā**

Korelācija: $r_s = 0,661$; $p = 0,004$.

Pētījuma sākumā starp Se un GPx tika konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija (3.23. attēls), jo Se atrodas enzīma aktīvajā centrā un no tā ir atkarīga enzīma aktivitāte.

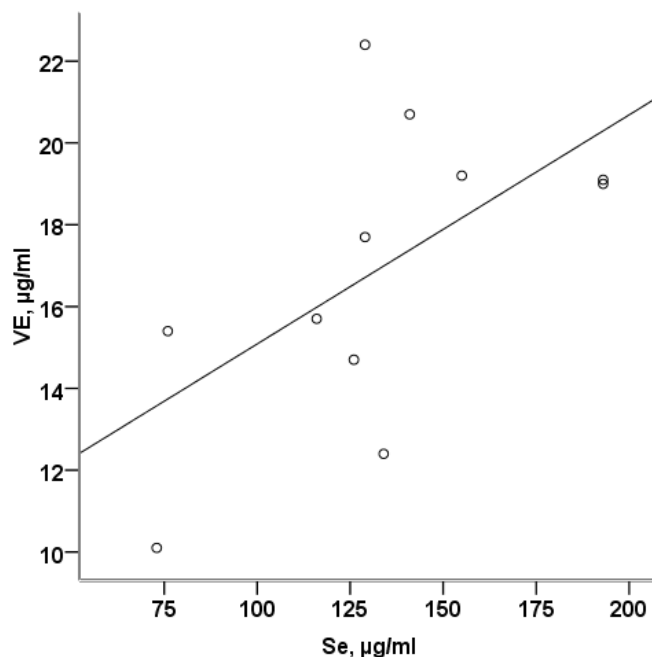
Se + KoQ₁₀ gr. pētījuma sākumā tika konstatēta negatīva vidēji cieša korelācija starp vienu no LPO rādītājiem 4-HNE un AOS enzīmu Cu, Zn-SOD (3.24. attēls). Korelācija liecina par superoksīdanjona lomu 4-HNE veidošanā.



3.24. att. **Korelācija starp Cu, Zn-SOD un 4-HNE Se + KoQ₁₀ grupā sākuma posmā**

Korelācija: $r_s = -0,633$; $p = 0,011$.

Se + KoQ₁₀ gr. 6. mēn. tika konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija starp Se un VE, kas liecina par abu rādītāju sinerģistisko darbību (3.25. attēls).



3.25. att. **Korelācija starp Se un VE Se + KoQ₁₀ grupā 6. mēnesī**
Korelācija: $r_s = 0,603$; $p = 0,050$.

3.12. tabula

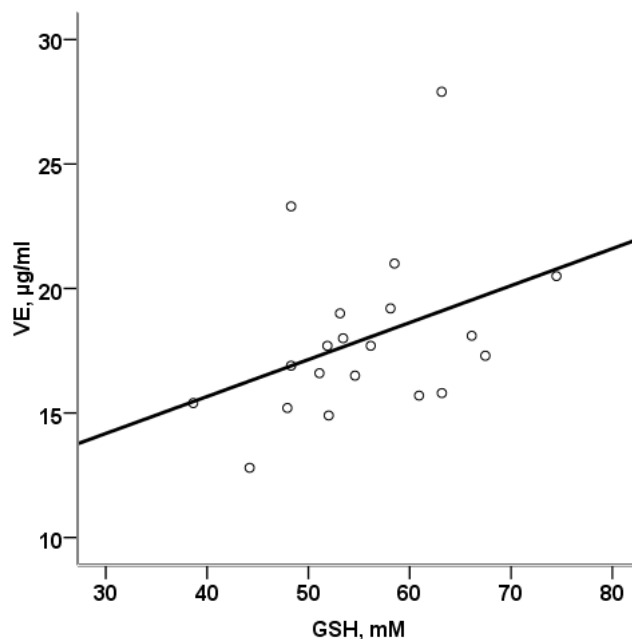
Spīrmēna korelācijas koeficienti (r_s) Se + KoQ₁₀ grupā

Rādītāji	0 mēn.		6. mēn.	
	r_s	p	r_s	p
GSH vs ALB	0,456	0,022	ns	
Se vs VE	-0,571	0,017	0,603	0,050
MDA+4-HNE vs VE	ns		-0,829	0,042

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

Apmēram viena trešdaļa ALB ir saistīta ar GSH, kas apstiprinās konstatētajā pozitīvajā vidēji ciešā korelācijā pētījuma sākumā Se + KoQ₁₀ gr. starp GSH un ALB. Ja sākuma posmā starp Se un Ve bija negatīva vidēji cieša korelācija, tad pētījuma beigās pēc Se un KoQ₁₀ lietošanas šī korelācija bija pozitīva. Tas liecina par Se un VE sinerģistisko darbību. Lai gan pētījuma gaitā VE un kopējā aldehīdu summa MDA + 4-HNE statistiski ticami nemainījās, starp šiem rādītājiem pētījuma beigās bija cieša negatīvā korelācija, kas liecina par VE lomu LPO kavēšanā (3.12. tabula).

3.26. attēlā redzams, ka KoQ₁₀ + IBF + Om gr. pētījuma 6. mēn. starp GSH un VE bija konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija, kas saistīta ar to, ka GSH piedalās VE reģenerācijā (1.2. attēls 10. reakcija).



3.26. att. Korelācija starp GSH un VE KoQ₁₀ + IBF + Om grupā 6. mēn.
Korelācija: $r_s = 0,451$; $p = 0,046$.

3.13. tabula

Spīrmēna korelācijas (r_s) koeficienti KoQ₁₀ + IBF + Om grupā

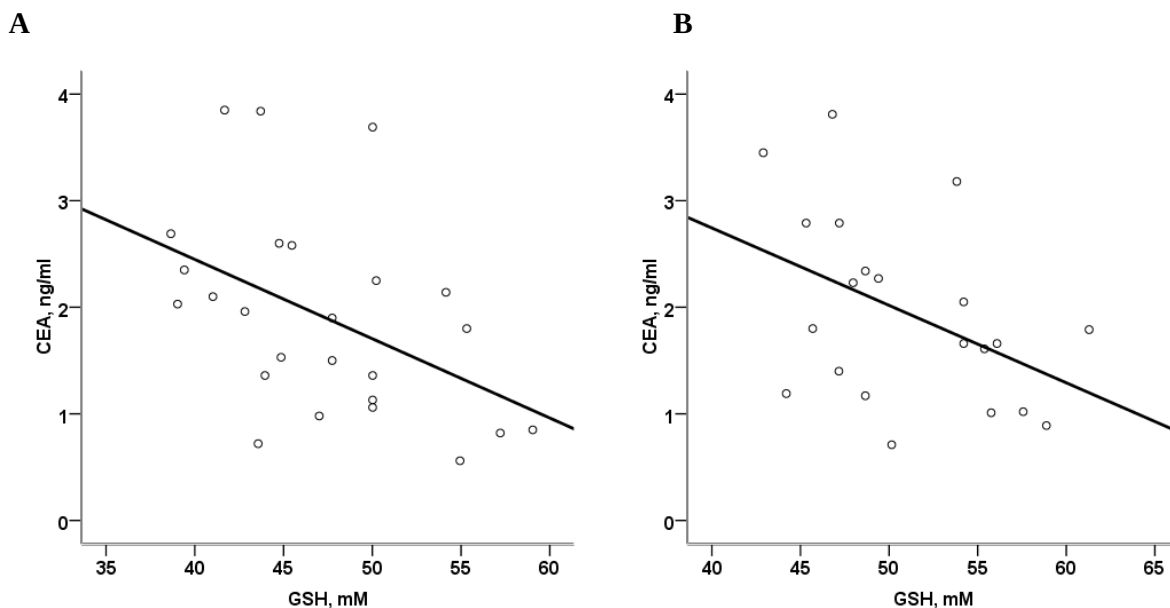
Rādītāji	0 mēn.		6. mēn.	
	r_s	p	r_s	p
GPx vs Se	0,703	0,005	ns	
4-HNE vs ALB	0,607	0,008	ns	
GSH vs Cu, Zn-SOD	ns		-0,592	0,006

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

3.13. tabulā parādīts, ka pētījuma sākumā KoQ₁₀ + IBF + Om gr. starp GPx un Se bija cieša pozitīva korelācija, kas apliecina, ka Se ir integrālais GPx komponents. Pētījuma beigās negatīva vidēji cieša korelācija starp Cu, Zn-SOD un GSH liecina par pieaugošo GSH daudzumu un Cu, Zn-SOD enzīma aktivitātes mazināšanos.

3.2.10. Spīrmēna korelācijas koeficienti (r_s) starp onkomarkšiem un OS rādītājiem

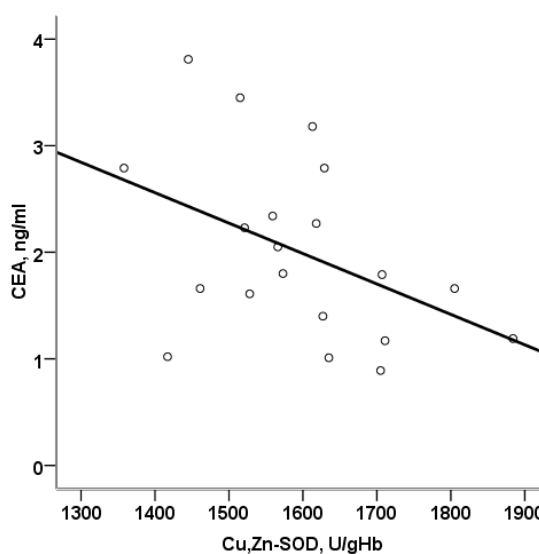
Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. bija konstatētas negatīvas vidēji ciešas korelācijas starp onkomarkšiem CEA un GSH gan sākuma posmā, gan 6. mēnesī (3.27. attēls). Starp enzīmu Cu, Zn-SOD un CEA negatīva vidēji cieša korelācija, kura bija konstatēta 6. mēn., liecina par enzīma lomu kancerogēnēzē (3.28. attēls).



3.27. att. Korelācija starp CEA un GSH Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā sākuma posmā (A) un 6. mēn. (B)

A: Korelācija: $r_s = -0,482$; $p = 0,015$.

B: Korelācija: $r_s = -0,494$; $p = 0,043$.

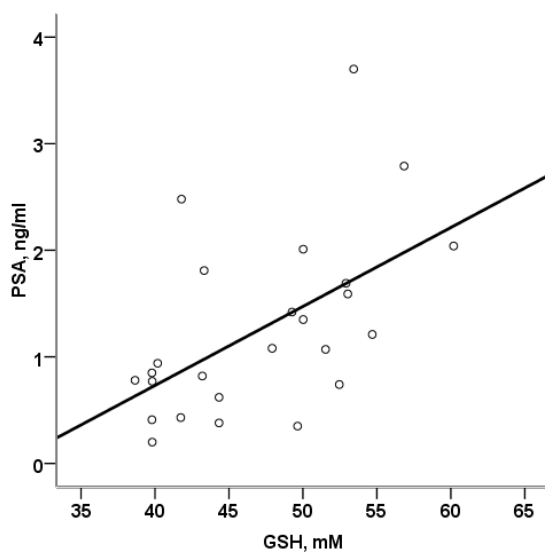


3.28. att. Korelācija starp CEA un Cu, Zn-SOD Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā 6. mēn.

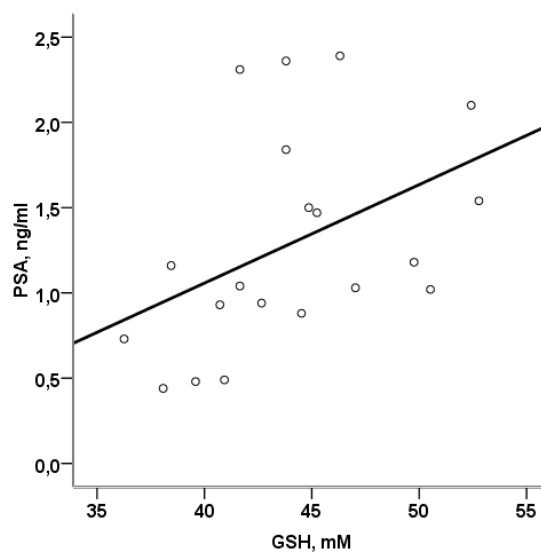
Korelācija: $r_s = -0,457$; $p = 0,043$.

Se + KoQ₁₀ gr. bija konstatētas korelatīvās saistības onkomarķierim PSA ar GSH gan pētījuma sākumā, gan 3. mēn. (3.29. attēls). Kvantitatīvie mērījumi parādīja, ka 3. mēn. GSH daudzums statistiski ticami nemainījās (3.17. attēls), tāpat kā onkomarķieris PSA (3.11. tabula).

A



B



3.29. att. Korelācija starp PSA un GSH
Se + KoQ₁₀ grupā sākuma posmā (A) un 3. mēn. (B)

A: Korelācija: $r_s = 0,580$; $p = 0,002$.

B: Korelācija: $r_s = 0,556$; $p = 0,011$.

3.14. tabula

Korelācijas starp onkomarķieriem un OS rādītājiem KoQ₁₀ + IBF + Om grupā

Rādītāji	0 mēn.		3. mēn.	
	r_s	p	r_s	p
CEA vs 4-HNE	0,481	0,043	ns	
PSA vs GSH	ns		-0,470	0,049

ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

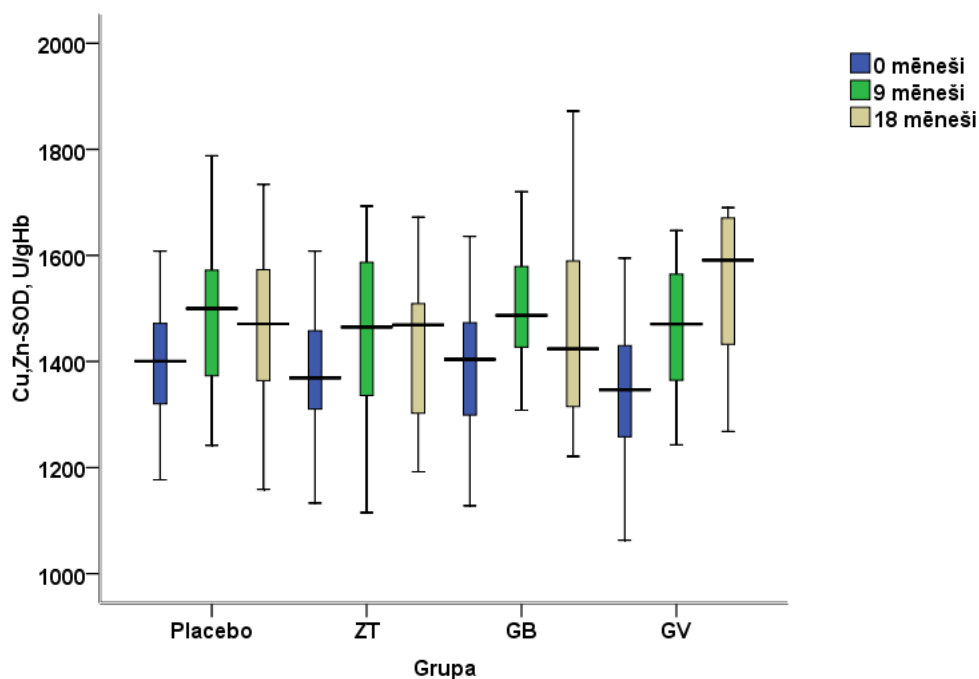
Pētījuma sākumā KoQ₁₀ + IBF + Om grupā bija konstatēta cieša pozitīva korelācija starp onkomarķieri CEA un 4-HNE, kas liecina par OS marķieru iesaisti kanceroģenēzē, bet 3. mēn. bija negatīva vidēji cieša korelācija starp onkomarķieri PSA un GSH (3.14. tabula).

3.3. III pētījums

3.3.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas pētījuma grupās attēlotas 3.30. attēlā.

Cu, Zn-SOD aktivitāte palielinājās statistiski ticami 9. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, visās pētījuma grupās: *Placebo* gr. par 7,1%, t. i., no 1401 (166) līdz 1500 (216) U/gHb ($p = 0,010$); ZT gr. par 7,0%, t. i., no 1369 (148) līdz 1465 (258) U/gHb ($p = 0,031$); GB gr. par 5,9%, t. i., no 1404 (176) līdz 1487 (167) U/gHb ($p = 0,001$); GV gr. par 9,2%, t. i., no 1347 (186) līdz 1471 (220) U/gHb ($p = 0,011$).



3.30. att. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas pēc zaļās tējas (ZT), *Ginkgo biloba* (GB) un *Grinvitals Cereloba® plus* (GV) preparātu lietošanas

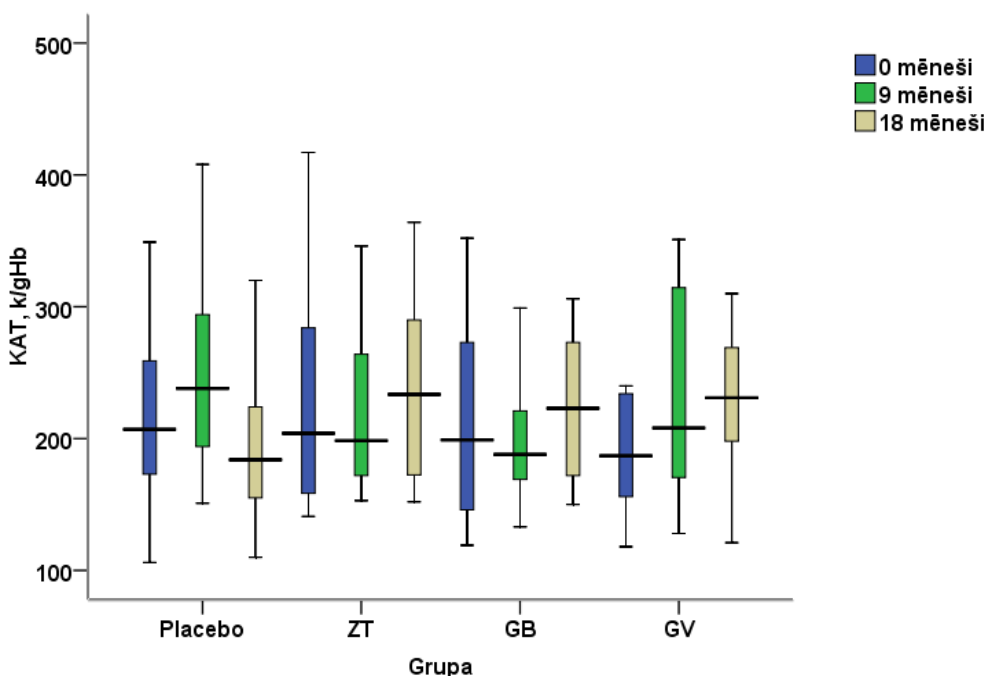
Pētījuma beigās, t. i., 18. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, Cu, Zn-SOD aktivitāte statistiski ticami palielinājās *Placebo* gr. par 5%, t. i., no 1401 (166) līdz 1471 (239) U/gHb ($p = 0,042$) un GV gr. par 18,1%, t. i., no 1347 (186) līdz 1591 (263) U/gHb ($p = 0,003$). GB gr. Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās 18. mēn. bija tuvu statistiski ticamai ($p = 0,064$), salīdzinot ar sākuma posmu.

3.3.2. Katalāzes aktivitātes izmaiņas

Katalāzes aktivitātes izmaiņas atainotas 3.31. attēlā.

Statistiski ticamas atšķirības KAT aktivitātei bija konstatētas 18. mēn., salīdzinot ar 9. mēn.: *Placebo* gr. KAT samazinājās par 22,3%, t. i., no 238 (106) līdz 184 (75) k/gHb ($p = 0,025$), bet GB gr. palielinājās par 18,6%, t. i., no 188 (61) līdz 223 (102) k/gHb ($p = 0,022$). GV gr. KAT aktivitātei bija tendence palielināties no sākuma posma līdz 9. mēn ($p = 0,0880$). ZT gr. KAT aktivitāte nemainījās.

Salīdzinot KAT aktivitātes izmaiņas *Placebo* gr. ar parējām grupām, konstatēts, ka 9. mēn. statistiski ticamas atšķirības bija GB gr. ($p = 0,023$), bet 18. mēn. tuvu statistiski ticamām atšķirības bija ZT gr. ($p = 0,069$), GB gr. ($p = 0,082$) un GV gr. ($p = 0,056$).

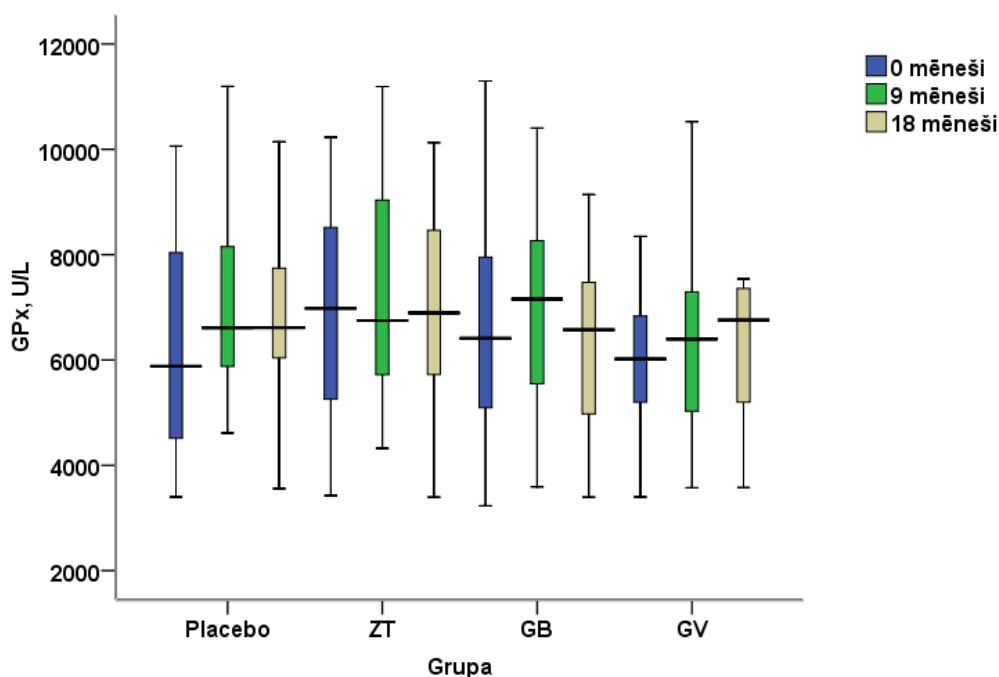


3.31. att. Katalāzes aktivitātes izmaiņas pēc zaļās tējas (ZT), *Ginkgo bioloba* (GB) un *Grinvitals Cereloba® plus* (GV) preparātu lietošanas

3.3.3. Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas

Glutathionperoksidāzes aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.32. attēlā.

Statistiski ticami GPx aktivitāte pieauga tikai *Placebo* gr. līdz 9. mēn. par 12,4%, t. i., no 5881 (3620) līdz 6609 (2522) U/L ($p = 0,045$) un palika tādā pašā līmenī līdz pētījuma beigām.



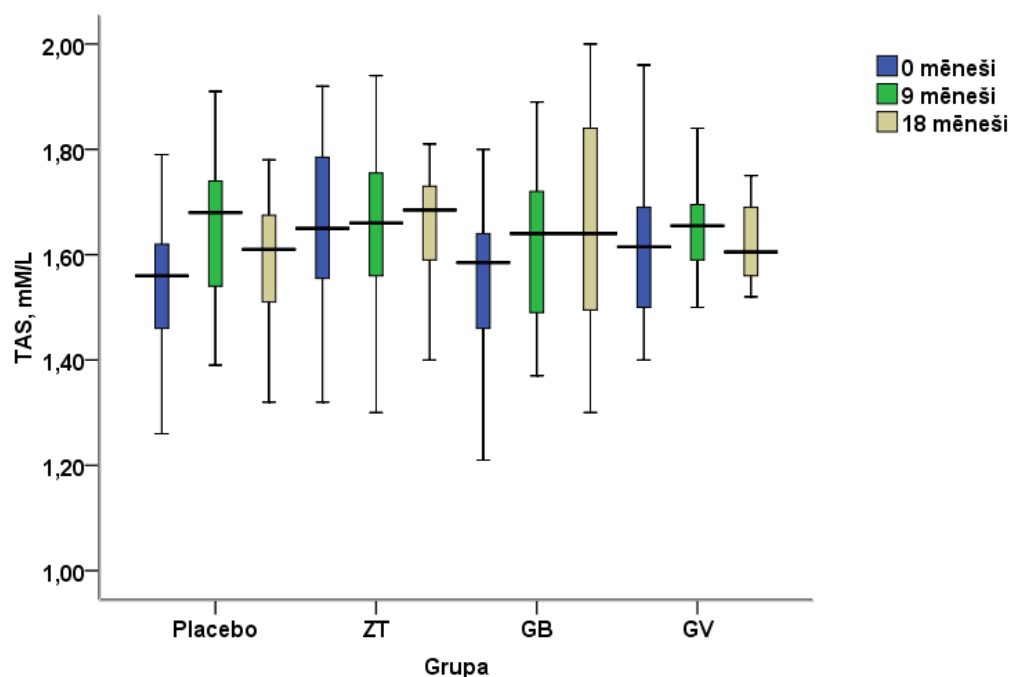
3.32. att. Glutathionperoksidāzes aktivitātes (GPx) izmaiņas pēc zaļās tējas (ZT), *Ginkgo biloba* (GB) un *Grinvitals Cerebro® plus* (GV) preparātu lietošanas

ZT gr. GPx aktivitāte nemainījās. GB gr. līdz 9. mēn. GPx aktivitātei bija tendence pieaugt un pēc tam samazināties līdz sākuma līmenim. GV gr. GPx aktivitātei visa pētījuma laikā bija tendence turpināt pieaugt. Šīs izmaiņas nebija statistiski ticamas.

3.3.4. Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņas

Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņas atspoguļotas 3.33. attēlā.

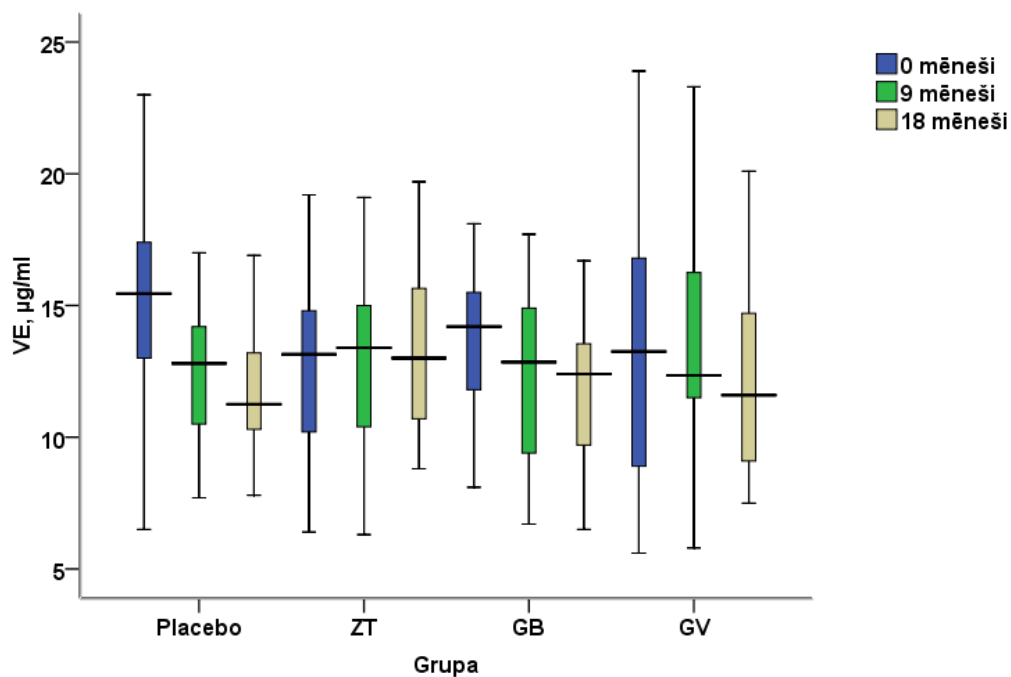
Totālais antioksidantu statusa daudzums statistiski ticami pieauga tikai *Placebo* gr. līdz 9. mēn. – par 7,7%, t. i., no 1,56 (0,18) līdz 1,68 (0,21) mM ($p = 0,032$) un palika tādā pašā līmenī līdz pētījuma beigām. Pārējās pētījuma grupās statistiski ticamas atšķirības netika konstatētas.



3.33. att. Totālā antioksidantu statusa (TAS) daudzuma izmaiņas pēc zaļās tējas (ZT), *Ginkgo bioloba* (GB) un *Grinvitals Cereloba® plus* (GV) preparātu lietošanas

3.3.5. E vitamīna daudzuma izmaiņas

E vitamīna daudzuma izmaiņas attēlotas 3.34. attēlā.



3.34. att. E vitamīna (VE) daudzuma izmaiņas pēc zaļās tējas (ZT), *Ginkgo bioloba* (GB) un *Grinvitals Cereloba® plus* (GV) preparātu lietošanas

Placebo gr. VE daudzums statistiski ticami samazinājās visa pētījuma laikā, salīdzinot ar sākuma periodu: 9. mēn. par 17%, t. i., no 15,45(4,60) līdz 12,80(4,40) µg/ml ($p = 0,004$) un 18. mēn. par 27%, t. i., līdz 11,25 (3,23) µg/ml ($p < 0,001$). Pētījuma beigās VE daudzums, salīdzinot ar 9. mēn., statistiski ticami samazinājās par 11,8%, t. i., no 12,80 (4,40) līdz 11,25 (3,23) µg/ml ($p = 0,037$).

GB gr. VE daudzums statistiski ticami samazinājās 9. mēn., salīdzinot ar sākuma periodu par 9,2%, t. i., no 14,20 (4,10) līdz 12,90 (5,70) µg/ml ($p = 0,037$) un saglabājās tādā pašā līmenī līdz pētījuma beigām.

GV gr. VE daudzumam bija tendence samazināties, attiecīgi 9. mēn. par 6,8% un 18. mēn. par 12,45%, salīdzinot ar sākuma posmu, bet šīs izmaiņas nebija statistiski ticamas. Statistiski ticami VE daudzums samazinājās no 9. līdz 18. mēn. par 6,1%, t. i., no 12,35 (5,38) līdz 11,60 (6,20) µg/ml ($p = 0,047$).

ZT gr. VE daudzums nemainījās.

3.3.6. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas

Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas aprakstītas 3.15. tabulā.

Lipīdu hidroperoksīdu daudzums 9. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās ZT gr. par 3,2%, t. i., no 6,83 (4,95) līdz 6,61 (3,51) µM ($p = 0,019$) un GB gr. par 31,1%, t. i., no 7,32 (3,20) līdz 5,04 (1,94) µM ($p = 0,001$), bet *Placebo* un GV grupās samazinājums nebija statistiski ticams. No 9. mēn. līdz 18. mēn. LOOH daudzumam visās grupās bija tendence pieaugt, izņemot ZT gr., kur tā līmenis turpināja samazināties.

Malondialdehīda daudzumam *Placebo* gr. visa pētījuma laikā bija tendence samazināties. ZT gr. MDA daudzums statistiski ticami samazinājās 9. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, par 11,7%, t. i., no 1,77 (1,10) līdz 1,51 (0,57) µM ($p = 0,039$), bet 18. mēn. – tuvu statistiski ticamam.

GB gr. MDA daudzums 18. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, statistiski ticami samazinājās par 24%, t. i., no 1,70 (0,65) līdz 1,29 (0,65) µM ($p = 0,005$).

Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņu dinamika 2TCD pacientiem pēc dažādu devu ZT, GB un GV ilgstošas lietošanas

Rādītājs	Grupa	0 mēn.	N	9. mēn.	N	p	18. mēn.	N	p
LOOH μM	<i>Placebo</i>	7,94(4,90)	26	6,02(5,54)	24	ns	6,29(7,02)	23	ns
	ZT	6,83(4,95)	20	6,61(3,51)*	17	0,019	6,34(8,81)	16	ns
	GB	7,32(3,20)	25	5,04(1,94)*	26	0,001	5,81(3,77)	20	ns
	GV	7,36(3,79)	18	5,48(4,86)	16	ns	8,86(4,37)	15	ns
MDA μM	<i>Placebo</i>	1,78(0,40)	20	1,63(0,54)	25	ns	1,49(0,57)	23	ns
	ZT	1,77(1,10)	19	1,51(0,57)*	18	0,039	1,46(0,44)	16	0,084
	GB	1,70(0,65)	26	1,45(0,93)	26	ns	1,29(0,65)*	19	0,005
	GV	1,68(0,69)	18	1,48(0,63)*	16	0,012	1,48(0,75)*	14	0,041
4-HNE μM	<i>Placebo</i>	4,64(4,21)	18	5,90(4,21)	25	ns	3,99(4,08)	23	ns
	ZT	4,98(5,40)	15	4,43(4,83)	18	ns	5,50(4,01)	16	ns
	GB	4,73(3,64)	21	4,32(3,94)	26	0,064	2,77(4,02)*	19	0,011
	GV	4,79(3,52)	18	3,98(4,59)	16	ns	4,77(5,08)	14	ns
MDA+4-HNE μM	<i>Placebo</i>	6,65(4,81)	21	7,49(3,91)	25	ns	6,09(3,48)	21	ns
	ZT	5,38(4,78)	19	6,46(4,44)	17	ns	6,78(4,21)	16	ns
	GB	6,30(4,80)	25	6,03(4,08)	26	ns	4,16(5,17)	19	ns
	GV	6,75(3,72)	18	5,66(4,45)	16	ns	6,37(4,21)	13	ns

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). * Statistiski ticama attiecība pret 0 mēnesi; ns – dati nav statistiski ticami, $p > 0,05$.

GV gr. MDA daudzums statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar sākuma posmu, visa pētījuma laikā: 9. mēn. par 11,9%, t. i., no 1,68 (0,69) līdz 1,48 (0,63) μM ($p = 0,012$) un 18. mēn. par 11,9%, t. i., no 1,68 (0,69) līdz 48 (0,63) μM ($p = 0,041$).

Statistiski ticami 4-HNE daudzums samazinājās GB gr. pacientiem 18. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, par 41%, t. i., no 4,73 (3,64) līdz 2,77 (4,02) μM ($p = 0,011$). Pētījuma 9. mēn. 4-HNE daudzuma samazinājums bija tuvu statistiski ticamam.

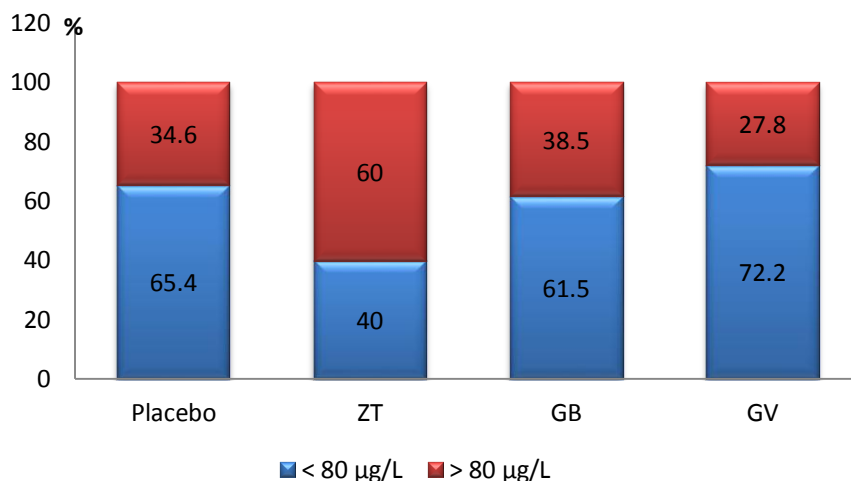
Pārējās pētījuma grupās novērotās izmaiņas nebija statistiski ticamas. *Placebo* gr. 4-HNE daudzumam bija tendence 9. mēn. palielināties un nākamajā pētījuma posmā samazināties. ZT gr. līdz 9. mēn. 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties un pēc tam palielināties, pārsniedzot sākuma datus. GV gr. 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties un pēc tam atgriezties sākuma līmenī.

Statistiski ticamas izmaiņas MDA + 4-HNE daudzumā nebija konstatētas. *Placebo* gr. bija konstatēta tendence MDA + 4-HNE daudzumam 9. mēn. pieaugt un pēc tam samazināties zemāk par sākuma datiem. ZT gr. MDA+4-HNE daudzumam bija tendence pieaugt visā pētījuma laikā. GB gr. bija tendence samazināties pētījuma beigās. GV gr. bija tendence 9. mēn. samazināties un pēc tam pieaugt, nesasniedzot sākuma datus.

Salīdzinot LPO rādītāju izmaiņas *Placebo* gr. ar pārējām gr., atšķirības bija tikai GB gr.: 9. mēn. LOOH ($p = 0,008$) un 4-HNE ($p = 0,065$); 18. mēn. MDA ($p = 0,018$).

3.3.7. Atšķirības rādītājos atkarībā no selēna daudzuma plazmā

Selēna daudzums 2TCD pacientiem, salīdzinot ar pieņemto normu Eiropas populācijā 80–120 µg/L, ir samazināts *Placebo* gr. – 65,4%, ZT gr. – 40%, GB gr. – 61,5% un GV gr. – 72,2% pacientu (3.35. attēls).



3.35. att. Selēna daudzums 2TCD pacientiem pētījumu grupās

Oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņas pētījumu grupās atkarībā no Se daudzuma, t. i., > 80 µg/L un < 80 µg/L parādītas 3.16. tabulā.

3.16. tabula

Atšķirības rādītājos atkarībā no Se daudzuma pētījumu grupu 2TCD pacientu asins plazmā

Grupa	Rādītājs	0 mēn.	9. mēn.	18. mēn.
<i>Placebo</i>	KAT	0,033	ns	0,065
	LOOH	ns	0,022	ns
	TAS	ns	ns	0,003
	VE	0,046	ns	ns
	4-HNE	ns	ns	0,053
ZT	KAT	ns	ns	0,072
	GPx	ns	ns	0,079
GB	GPx	ns	0,031	ns
	MDA	0,069	ns	ns
GV	Cu, Zn-SOD	ns	0,015	0,020
	VE	ns	0,047	ns

ns – nav statistiski ticami dati; $p > 0,05$

Placebo gr. statistiski ticamas atšķirības tika konstatētas: sākuma posmā KAT aktivitātei ($p = 0,033$) un VE daudzumam ($p = 0,046$); 9. mēn. lipīdu peroksidācijas rādītājam

LOOH ($p = 0,022$); 18. mēn. TAS daudzumam ($p = 0,003$). Pētījuma beigās atšķirības KAT un 4-HNE bija tuvu statistiski ticamām. GB gr. 9. mēn. statistiski ticama atšķirība bija GPx aktivitātei ($p = 0,031$). GV gr. statistiski ticamas izmaiņas bija Cu, Zn-SOD aktivitātei 9. un 18. mēn. ($p = 0,015$; $p = 0,020$, attiecīgi) un VE daudzumam 9. mēn. ($p = 0,047$).

3.17. tabula

Statistiski ticamas rādītāju izmaiņas atkarībā no Se daudzuma

Rādītājs	Grupa	Se, $\mu\text{g/L}$	0 mēn.	N	9. mēn.	N	18. mēn.	N
SOD, U/gHb	P	> 80	1416 (248)	9	1515 (203)* $p = 0,015$	9	1471 (162)* $p = 0,028$	7
	GB	< 80	1404 (175)	16	1470 (220)* $p = 0,015$	16	1458 (285)	12
	GV	< 80	1352(199)	13	1528 (184) $p = 0,004$	11	1638 (124)* $p = 0,005$	10
KAT, k/gHb	P	> 80	189 (72)	9	244 (102)* $p = 0,038$	6	157 (71)	6
	GV	> 80	191 (82)	5	262 (194)	4	247 (71)* $p = 0,008$	5
GPx, U/L	P	< 80	5755 (3481)	17	6609 (2163)* $p = 0,047$	15	6727 (1722)	16
TAS, mmol/L	GB	> 80	1,56 (0,18)	10	1,65 (0,35)	10	1,64 (0,25) * $p = 0,046$	7
VE, $\mu\text{g/ml}$	P	< 80	14,00 (4,55)	17	12,7 (3,93)* $p = 0,021$	16	10,90 (4,13)** $p = 0,004$	16
	P	> 80	17,40 (7,35)	9	13,0 (5,00)	9	12,40 (4,95)* $p = 0,028$	6
	GV	> 80	13,00 (8,30)	5	15,0 (7,50)	5	12,30(7,95) ** $p = 0,043$	5
LOOH, μM	ZT	< 80	8,06 (4,48)	8	6,50 (3,29)* $p = 0,050$	8	6,54 (9,87)	7
	GB	< 80	6,81 (3,64)	15	4,99 (2,86)* $p = 0,02$	16	5,99 (5,27)	12
	GB	> 80	8,25 (4,20)	10	5,21 (1,48)* $p = 0,013$	10	5,66 (5,07)	12
MDA, μM	ZT	> 80	1,69 (1,34)	12	1,51 (0,53)	10	1,32 (0,49)* $p = 0,037$	10
	GB	< 80	1,63 (0,53)	16	1,38 (0,88)	16	1,22(0,57)* $p = 0,023$	12
	GV	< 80	1,79 (0,79)	13	1,74(0,63)* $p = 0,009$	11	1,51(0,76)* $p = 0,021$	9
4-HNE, μM	GV	> 80	5,81 (6,03)	5	2,53 (2,51)* $p = 0,043$	5	5,33 (2,83)	5
MDA+ 4HNE, μM	GV	> 80	7,19 (6,27)	5	4,74 (2,30)* $p = 0,043$	5	6,37 (3,93)	5

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). *Statistiski ticami atšķiras no 0 mēn. **Statistiski ticami atšķiras no 9. mēn.

3.3.8. Spīrmena korelācijas koeficientu (r_s) izmaiņas starp rādītājiem

3.18. tabula

Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) 2TCD pacientiem *Placebo* grupā

Periods, mēn.	Rādītāji	r_s	p
0	Se vs KAT	-0,411	0,037
	LOOH vs KAT	0,458	0,019
	LOOH vs Se	-0,485	0,012
	MDA + HNE vs Se	-0,459	0,036
9.	Cu, Zn-SOD vs TAS	-0,417	0,032
	TAS vs VE	0,431	0,031
	4-HNE vs GPx	0,438	0,037
	MDA vs TAS	0,434	0,030
18.	TAS vs VE	0,456	0,033
	GPx vs Cu, Zn-SOD	-0,415	0,049
	KAT vs Cu, Zn-SOD	0,460	0,031

Placebo gr. pētījuma sākumā bija konstatēta negatīva vidēji cieša korelācija LOOH ar Se un pozitīva ar KAT aktivitāti. Konstatētās korelācijas liecina par Se lomu LPO procesā, jo, būdams GPx integrālais komponents, tas veicina GPx aktivitātes paaugstināšanos. (3.18. tabula; 3.36. attēls). Pētījuma sākumā Se un GPx korelatīvās saistības uzrādīja korelācijas tendenci ($r_s = 0,360$, $p = 0,071$, dati nav parādīti). Ja ir Se deficīts, GPx aktivitāte varētu būt samazinājusies, kas veicinātu nepilnīgu lipīdu hidroperoksīdu šķelšanos un sekojoši arī MDA un 4-HNE paaugstināšanos. 3.18. tabulā redzams, ka starp kopējo aldehīdu summu MDA + 4-HNE un Se pastāvēja negatīva vidēji cieša korelācija. Katalāzes aktivitātes pozitīva korelācija ar LOOH liecina, ka, pieaugot LPO procesam, pieaug arī antioksidatīvās sistēmas antiperoksidatīvā darbība. Katalāzes aktivitātes paaugstināšanos varētu arī sekmēt pazeminātais Se daudzums, par ko liecina negatīva vidēji cieša korelācija starp abiem rādītājiem (3.18. tabula).

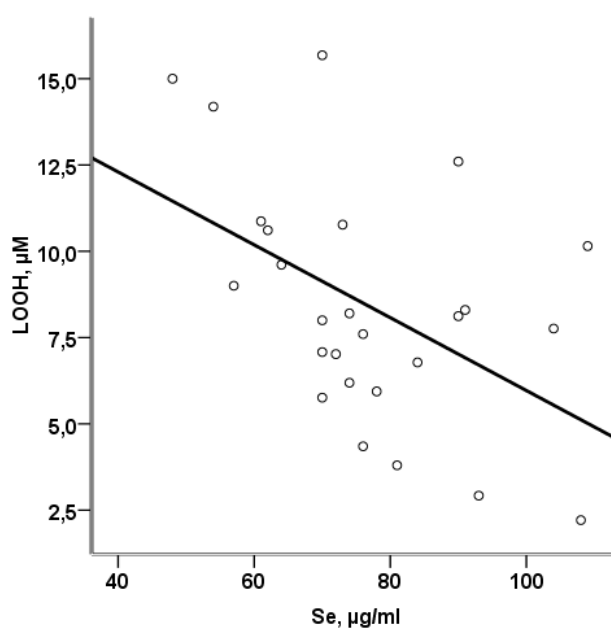
Pētījuma 9. mēn. korelatīvās saistības bija konstatētas TAS ar LPO metabolītu MDA un antioksidatīvās aizsargsistēmas rādītājiem Cu, Zn-SOD un VE. Lai gan 9. mēn. pieauga Cu, Zn-SOD aktivitāte un TAS daudzums, šo abu rādītāju korelācija bija negatīva. Kaut arī iegūtie rezultāti liecina, ka 9. mēn. pieauga TAS daudzums (hidrofilas dabas AO) un samazinājās VE (lipofils AO) daudzums, starp abiem rādītājiem bija konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija.

Placebo gr. pētījuma 9. mēn. bija konstatēts, ka statistiski ticami pieauga GPx aktivitāte, bet 4-HNE daudzumam bija tendence paaugstināties (3.32. attēls un 3.15. tabula), kas apstiprinājās Spīrmena korelācijas analīzē kā pozitīva vidēji cieša korelācija (3.37. attēls), t. i., pieaugot LPO procesam, palielinās arī GPx aktivitāte lipīdu peroksīdu šķelšanai.

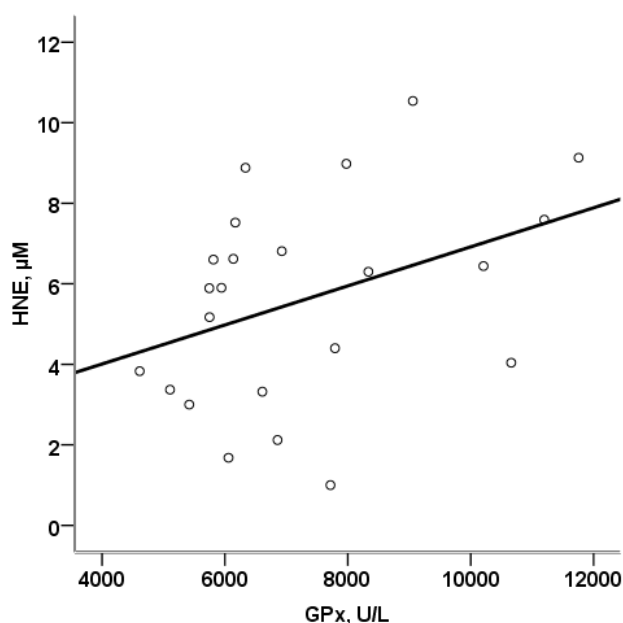
Korelatīvās saistības parādīja, ka *Placebo* gr. 9.mēn. vienlaikus ar LPO rādītājiem pieauga antioksidatīvās aizsardzības sistēmas rādītāji.

3.18. tabulā redzams, ka pētījuma 18. mēnesī tika konstatētas statistiski ticamas korelatīvās saistības starp antioksidatīvās aizsardzības sistēmas rādītājiem. Tāpat kā 9. mēn. saglabājas pozitīva vidēji cieša korelācija starp TAS un VE. Cu, Zn-SOD bija vidēji cieša pozitīva korelācija ar KAT un negatīva ar GPx. Ņemot vērā, ka KAT aktivitāte ticami samazinājās, lielāku lomu peroksīdu šķelšanā ieņem GPx.

Pētījuma beigās tika konstatēta negatīva tendence korelatīvai saistībai starp GPx un LOOH ($r_s = -0,389$; $p = 0,073$, dati nav parādīti).



3.36. att. **Korelācija starp Se un LOOH daudzumu**
***Placebo* grupā sākuma posmā.**
 $r_s = -0,485$; $p = 0,012$.



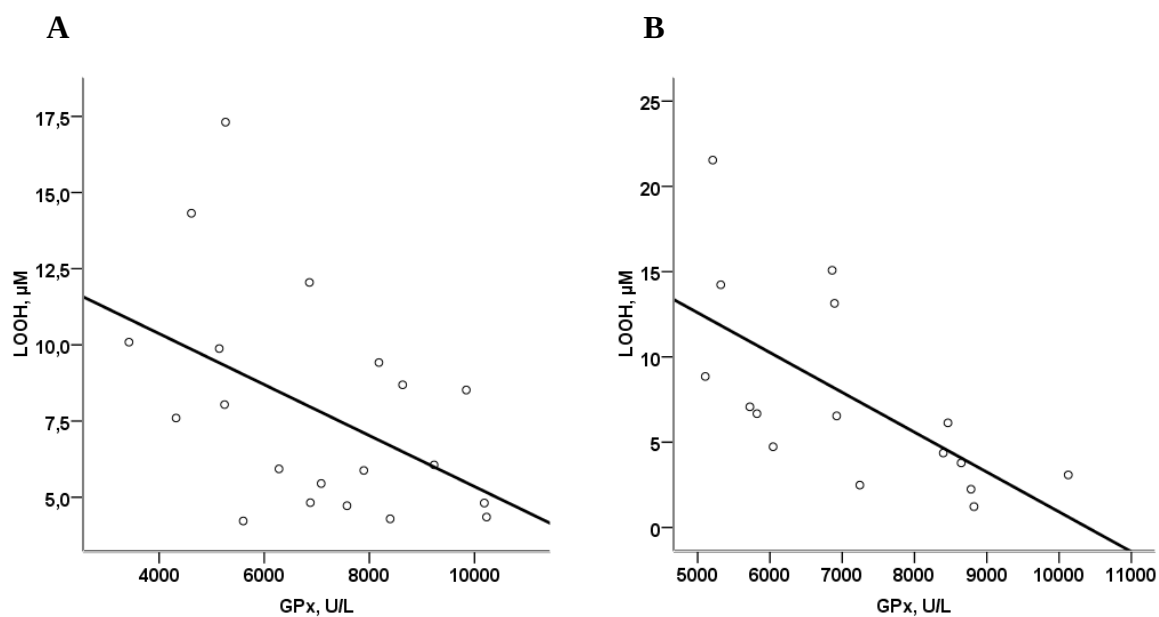
3.37. att. Korelācija starp GPx un 4-HNE *Placebogrupā* 9. mēn.
 $r_s = 0,438$, $p = 0,037$.

3.19. tabula

Spīrmēna korelācijas koeficienti (r_s) ZT grupā

Periods, mēn.	Rādītāji	r_s	p
0	GPx vs LOOH	-0,469	0,037
9.	Cu, Zn-SOD vs KAT	-0,514	0,029
	TAS vs 4-HNE	-0,515	0,029
	TAS vs MDA+4-HNE	-0,645	0,005
18.	GPx vs LOOH	-0,824	< 0,001

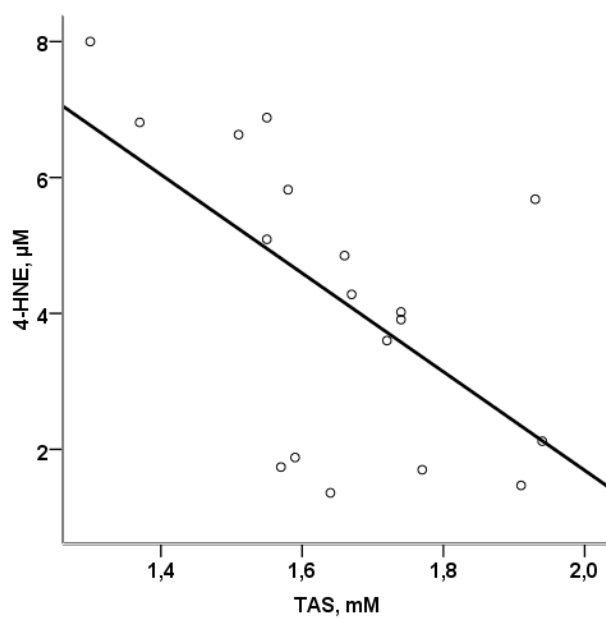
ZT gr. pētījuma sākumā starp GPx un LOOH bija negatīva vidēji cieša korelācija, bet pētījuma beigās – negatīvi cieša sakarība (3.19. tabula un 3.38. attēls). Ja pētījuma sākumā bija konstatēta negatīva tendence korelatīvai saistībai Cu, Zn-SOD ar KAT ($r_s = -0,410$; $p = 0,073$, dati nav parādīti), tad 9. mēn. šī saistība bija statistiski ticama (3.19. tabula). Tendence negatīvai korelatīvai saistībai sākuma posmā bija starp KAT un GPx ($r_s = -0,380$; $p = 0,099$, dati nav parādīti), kas liecina, ka, samazinoties KAT aktivitātei, H_2O_2 šķelšanās galveno lomu ieņem GPx. Negatīva vidēji cieša korelācija TAS ar LPO rādītājiem MDA un kopējai aldehīdu summai MDA + 4-HNE nozīmē, ka ūdenī šķīstošo antioksidantu darbība spēj ietekmēt LPO procesa iniciāciju.



3.38. att. Korelācija starp GPx aktivitāti un LOOH daudzumu ZT grupā sākuma posmā (A) un 9. mēn. (B)

A: Korelācija: $r_s = -0,469$; $p = 0,037$.

B: Korelācija: $r_s = -0,824$; $p < 0,001$.



3.39. att. Korelācija starp TAS un 4-HNE daudzumu ZT grupā 9. mēn.

Korelācija: $r_s = -0,596$; $p = 0,009$.

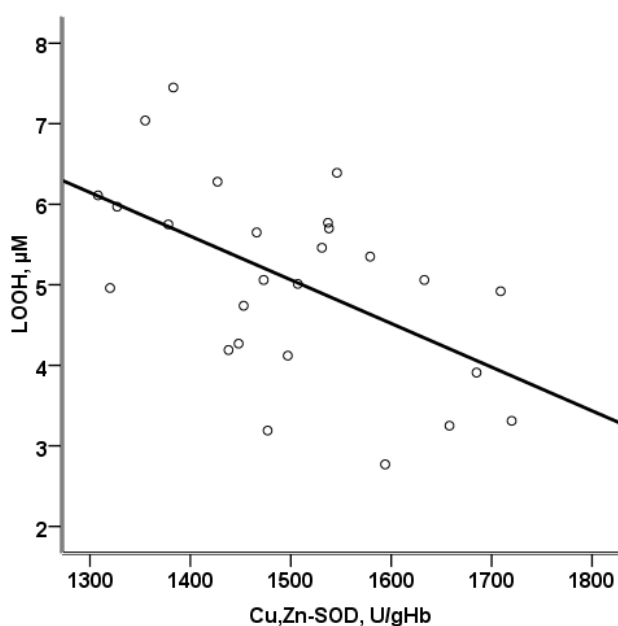
Pētījuma grupas, kurās bija lietots *Ginkgo biloba* preparāts, rezultāti attēloti 3.20. tabulā.

3.20. tabula

Spīrmena korelācijas koeficienti (r_s) GB grupā

Periods, mēn.	Rādītāji	r_s	p
0	MDA+4-HNE vs KAT	0,459	0,021
9.	Cu, Zn-SOD vs LOOH	-0,419	0,033
18.	KAT vs GPx	-0,511	0,030
	KAT vs 4-HNE	0,556	0,017

Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanos (3.30. attēls) un LOOH daudzuma samazināšanos (3.15. tabula) pētījuma 9. mēn. apstiprina negatīva vidēji cieša korelācija (3.40. attēls). Katalāzes aktivitātei pētījuma sākumā un beigās bija pozitīvas vidēji ciešas korelatīvas saistības ar LPO rādītājiem. Iespējams, ka LPO inducē KAT gēnu ekspresiju un tādējādi ataino šūnas adaptīvo atbildi uz OS. Pētījuma 18. mēn. tika konstatēts, ka KAT aktivitāte ticami pieauga (3.31. attēls), bet GPx aktivitātei bija tendence samazināties (3.32. attēls). Starp abiem enzīmiem pastāvēja negatīva vidēji cieša korelācija.



3.40. att. **Korelācija starp Cu, Zn-SOD aktivitāti un LOOH daudzumu GB grupā 9. mēn.**

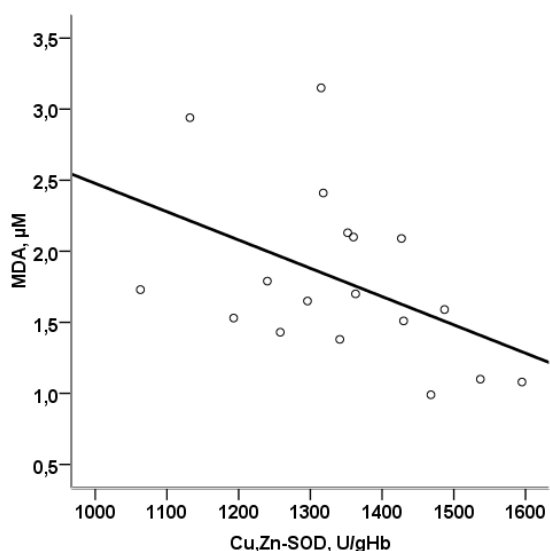
Korelācija: $r_s = -0,454$; $p = 0,020$.

Spīrmēna korelācijas koeficienti (r_s) GV grupā

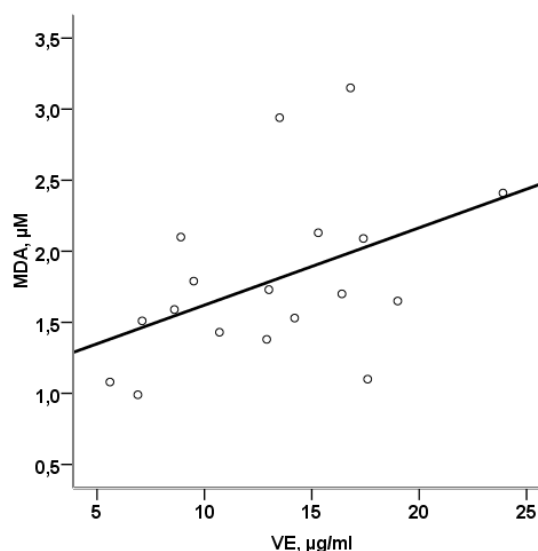
Periods, mēn.	Rādītāji	r_s	p
9.	TAS vs Cu, Zn-SOD	0,472	0,048
	Cu, Zn-SOD vs MDA	-0,484	0,042
	MDA vs VE	-0,476	0,046
	TAS vs GPx	0,675	0,002
18.	Cu, Zn-SOD vs KAT	-0,640	0,014

Pētījuma sākumā GV gr. bija konstatēta AOS enzīma Cu, Zn-SOD negatīva korelācija ar MDA (3.21. tabula un 3.41. A attēls), kas pierāda superoksīda radikāļa lomu LPO procesā. Malondialdehīda un VE daudzumu pozitīvā korelācija liecina par VE iesaisti LPO procesa kavēšanā (3.41. B attēls). Totālā antioksidantu statusa daudzums pozitīvi vidēji cieši korelēja ar enzīmiem Cu, Zn-SOD un GPx. Pētījuma beigās starp Cu, Zn-SOD un KAT aktivitātēm bija negatīva korelācija.

A



B



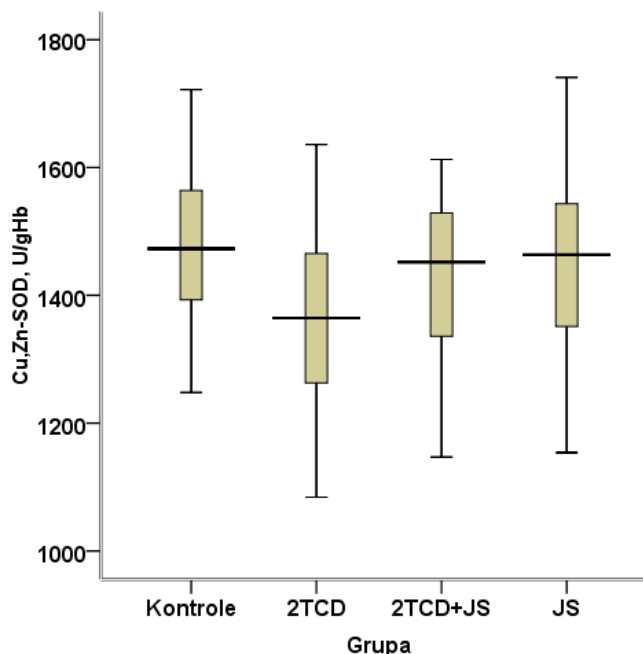
3.41. att. Korelācija starp Cu, Zn-SOD (A) vai VE (B) un MDA GV grupā 0 mēn.

A: Korelācija: $r_s = -0,484$; $p = 0,042$.B: Korelācija: $r_s = 0,476$; $p = 0,046$.

3.4. IV pētījums

3.4.1. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.42. attēlā.



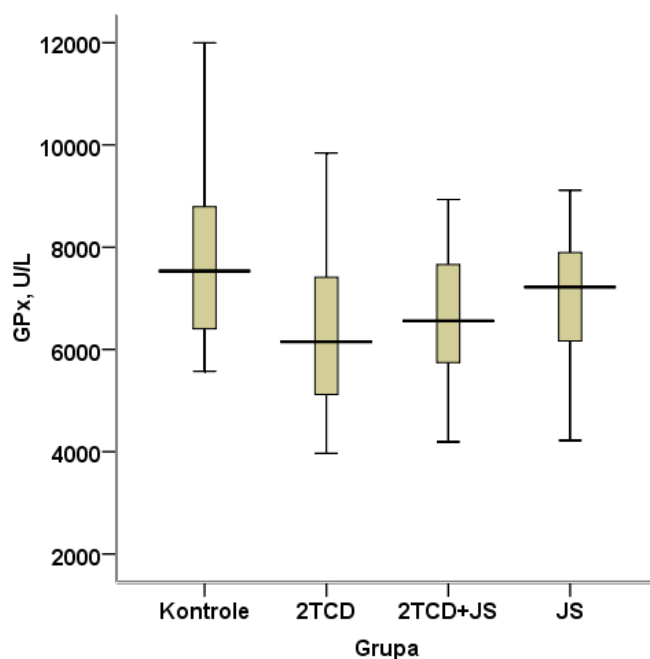
3.42. att. Cu, Zn-SOD aktivitāte

Statistiski ticamas atšķirības Cu, Zn-SOD aktivitātei bija pacientu ar 2TCD grupā, kuras dalībnieki nebija pakļauti JS. Salīdzinot ar kontroles grupā konstatēto Cu, Zn-SOD aktivitāti, t. i., 1473 (181) U/gHb, 2TCD gr. tā bija statistiski zemāka par 7,3%, t. i., 1365 (210) U/gHb ($p = 0,002$). Toties JS un 2TCD + JS grupās, t. i., personām, kuras bija pakļautas JS, šī enzīma aktivitāte palika kontroles grupas līmenī.

3.4.2. Glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņas

Statistiski ticamas atšķirības GPx aktivitātei bija konstatētas ar diabētu saistītās grupās (3.43. attēls). Salīdzinot ar kontroles grupā noteikto GPx aktivitāti, t. i., 7533 (2546) U/L, tā 2TCD gr. bija zemāka par 18%, t. i., 6151 (2349) U/L ($p = 0,002$) un 2TCD + JS gr. par 13%, t. i., 6558 (2124) U/L ($p = 0,020$).

JS gr. GPx aktivitāte bija tuvu statistiski ticamam ($p = 0,051$) augstāka, salīdzinot ar 2TCD grupu.



3.43. att. Glutathioneperoksidāzes aktivitāte

3.22. tabula

3.4.3. Totālā antioksidantu statusa un Se daudzuma izmaiņas

Grupa	N	TAS, mM	N	Se, µg/L
Norma	–	1,30–1,77	–	80–120
JS	29	1,59 (0,25)	36	68,5 (18,75)
2TCD	36	1,65 (0,16)	36	75,5 (17,00)
2TCD + JS	28	1,71 (0,23)	28	66,0 (22,00)

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls).

Selēna daudzums bija pazemināts, ja salīdzina ar zemāko references normas rādītāju, 2TCD gr. par 6%, 2TCD + JS gr. par 17,5% un JS gr. par 14,4%. Totālā antioksidantu statusa daudzums visās grupās bija references lielumu robežās, kaut gan, salīdzinot savā starpā, konstatēts, ka JS gr. t. i. tuvu statistiski ticami zemāks ($p = 0,061$), salīdzinot ar 2TCD + JS grupu (3.22. tabula).

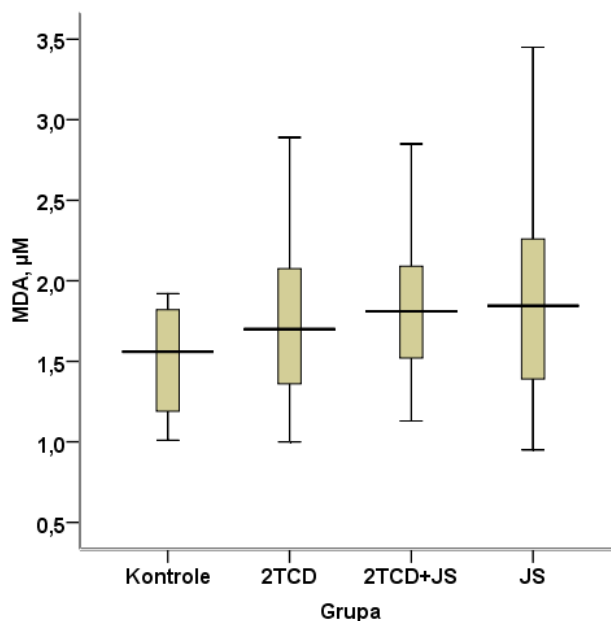
3.4.4. Lipīdu peroksidācijas rādītāju izmaiņas

Malondialdehīda daudzuma izmaiņas

Malondialdehīda daudzuma izmaiņas atainotas 3.44. attēlā.

Malondialdehīda daudzums bija statistiski ticami ($p = 0,030$) augstāks JS gr. par 18,8%, t. i., 1,85 (0,88) µM un 2TCD + JS gr. par 16%, t. i., 1,81 (0,63) µM ($p = 0,012$), salīdzinot ar kontroles grupu 1,56 (0,65) µM.

2TCD gr. MDA daudzums bija tuvu statistiski ticamam augstāks par 9% ($p = 0,076$) nekā kontroles grupā.

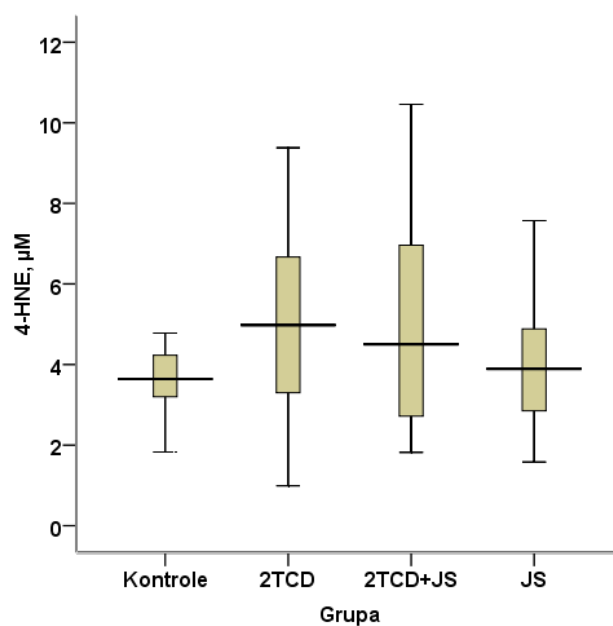


3.44. att. Malondialdehīda daudzums

4-hidroksinonenāla daudzums

4-hidroksinonenāla daudzuma izmaiņas attēlotas 3.45. attēlā.

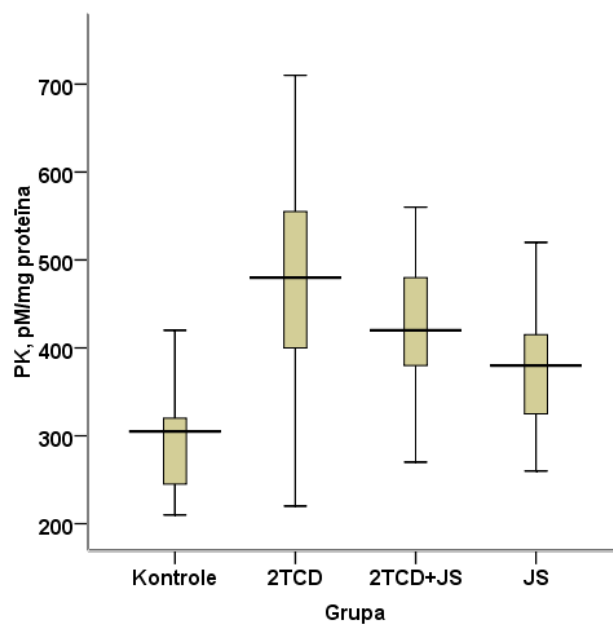
4-hidroksinonenāla daudzums bija statistiski ticami ($p = 0,005$) paaugstināts 2TCD gr. par 37%, t. i., 4,98 (3,74) μM , salīdzinot ar kontroles gr. 3,64 (1,26) μM . 2TCD + JS gr. 4-HNE daudzums bija tuvu statistiski ticamam ($p = 0,094$) augstāks par 24%, salīdzinot ar kontroles grupu. Atšķirības starp 2TCD gr. un JS gr. ir tuvu statistiski ticamām ($p = 0,091$).



3.45. att. 4-hidroksinonenāla daudzums

3.4.5. Proteīnu karbonilu daudzuma izmaiņas

Proteīnu karbonilu daudzums statistiski ticami bija palielināts visās pētījuma grupās, salīdzinot ar kontroles grupu (3.46. attēls).



3.46. att. Proteīnu karbonilu daudzums

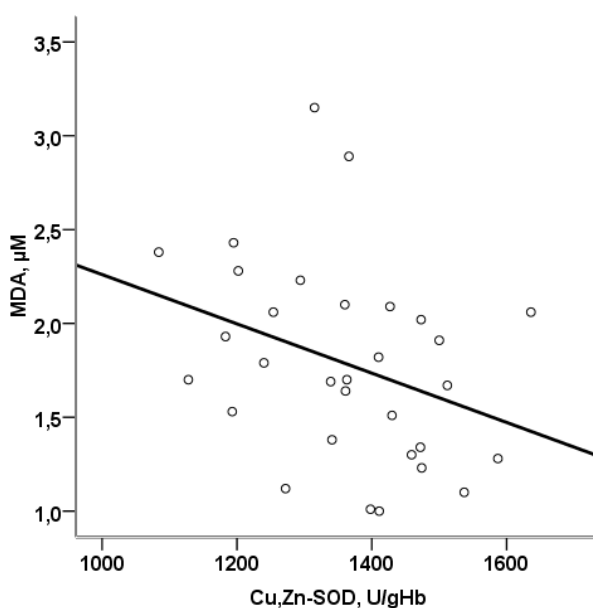
2TCD gr. PK daudzums bija augstāks par 57% , t. i., 480 (160) pM/mg proteīna ($p < 0,001$); 2TCD + JS gr. – par 37%, t. i., 420 (105) pM/mg proteīna ($p = 0,001$); JS gr. – par 25%, t. i., 380 (95) pM/mg proteīna ($p < 0,001$), salīdzinot ar kontroles grupā noteikto vērtību 305 (82,5) pM/mg proteīna.

2TCD gr. un 2TCD + JS gr. PK daudzums statistiski ticami augstāks nekā JS gr. ($p < 0,001$ un $p = 0,030$, attiecīgi).

3.4.6. Oksidatīvā stresa rādītāju savstarpējā saistība

Spīrmena korelācijas koeficientu (r_s) izmaiņas

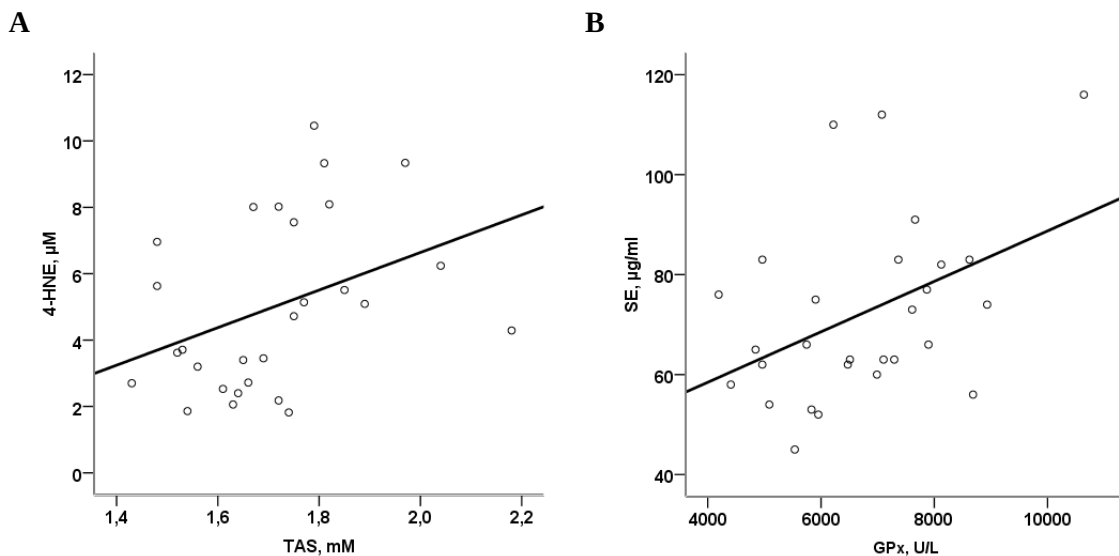
Pētījuma 2TCDgr. bija konstatēta vāja negatīva korelācija starp MDA un Cu, Zn-SOD aktivitāti (3.47. attēls), kas liecina, ka pazeminātai enzīma aktivitātei sekoja LPO palielināšanās.



3.47. att. **MDA korelācija ar Cu, Zn-SOD 2TCDgrupā**

Korelācija: $r_s = -0,397$; $p = 0,027$.

2TCD gr. bija izteikts Se deficīts (3.22. tabula) un zema GPx aktivitāte (3.43. attēls), tādēļ starp Se un GPx pastāvēja tendence korelatīvai saistībai ($r_s = 0,300$, $p = 0,076$, dati nav parādīti).



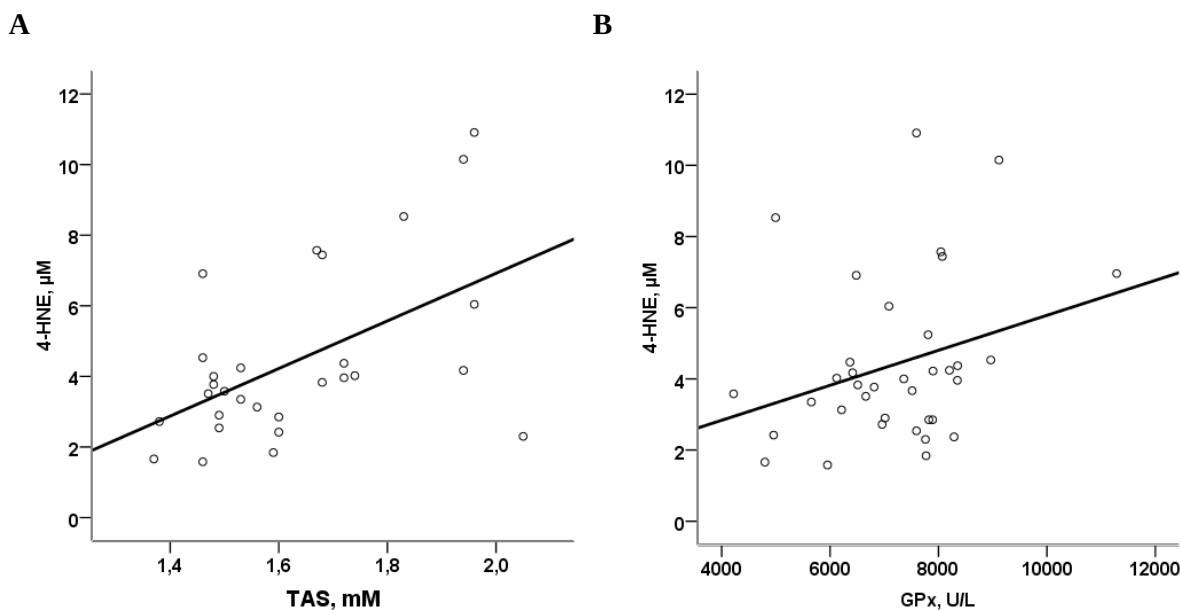
3.48. att. Rādītāju korelatīvās saistības 2TCD + JS grupā

A: Korelācija: $r_s = 0,476$, $p = 0,011$.

B: Korelācija: $r_s = 0,391$, $p = 0,039$.

Pētījuma grupā 2TCD + JS bija pozitīva vidēji cieša korelācija TAS ar 4-HNE (3.48. A attēls). Rezultāti liecina, ka lipīdu oksidatīvos bojājumus vienlaikus pavada AOS aizsardzības pieaugums. Ja bija zems Se daudzums un GPx aktivitāte, starp Se un GPx pastāvēja vāja cieša pozitīva korelācija (3.48. B attēls).

Pētījuma grupā JS, kurā piedalījās Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji, bija konstatēta pozitīva vidēji cieša korelācija starp 4-HNE un TAS (3.49. A attēls).



3.49. att. Korelācija starp TAS (A) vai GPx (B) un 4-HNE JS grupā

A: Korelācija: $r_s = 0,447$, $p = 0,015$.

B: Korelācija: $r_s = 0,328$, $p = 0,050$.

Rezultāti liecina, ka lipīdu oksidatīvos bojājumus vienlaikus pavada AOS aizsardzības pieaugums. JS gr. 4-HNE daudzums un GPx aktivitāte statistiski ticami neatšķīrās no kontroles grupas, t. i., augsta GPx aktivitāte kavēja 4-HNE veidošanos (3.43. un 3.45. attēls), kas izpaudās vājā pozitīvā korelācijā (3.49. B attēls). Starp GPx un otro LPO metabolītu MDA netika konstatēta korelatīva saistība, t. i., pietiekami augstā GPx aktivitāte nenodrošināja MDA samazināšanos. Jāņem vērā, ka šajā grupā TAS daudzums bija zemākais, t. i., ūdenī šķīstošie AO pietiekami nenodrošināja brīvo radikāļu neitralizēšanu un tie varēja “uzbrukt” šūnu membrānām

4. DISKUSIJA

I pētījums

Ibuprofēna kombinētas lietošanas ar E vitamīnu un selēnu ietekme uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem

Pētījuma sākumā visās pētījuma grupās, kaut arī VE un TAS daudzums atbilda normas robežām, tomēr daži klastogēnie faktori – LPO rādītāji (TBS_MDA, H_{maks} , S_{oks} , $tg\alpha$) – bija paaugstināti, un tas liecināja par OS esamību. Cieša pozitīvā korelācija starp TAS un TBS_MDA norādīja, ka, atbildot uz OS palielināšanos, pieauga arī AOS aizsardzība.

Placebo gr. TAS (3. mēn.) un VE (3. un 6. mēn.) daudzuma pieaugumam sekoja visu LPO rādītāju samazināšanās (12. mēn.). Paralēli LPO rādītāju samazinājumam saruka arī VE un Se. E vitamīna daudzuma samazināšanos 12. mēn. (3.2. attēls) var izskaidrot ar tā endogēno rezervju izmantošanu LPO procesa kavēšanai, kā arī ar pazeminātu tā reģenerāciju. Selēna daudzums *Placebo* gr., Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem pētījuma beigās, bija zemāks par pieņemto normu 80–120 $\mu\text{g/L}$. Selēna un VE rezervju izsīkšana varētu būt pamats tālākai OS attīstībai, par ko liecināja vidēji cieša negatīva korelācija starp Se un lipīdu peroksidācijas ātrumu ($tg\alpha$) 6. mēnesī (3.12. attēls).

Izvērtējot onkomarķieru rādītājus *Placebo* grupā, bija konstatēts, ka kaut arī LPO rādītāji samazinājās, CEA, PSA un brīvā PSA daudzums statistiski ticami pieauga pētījuma beigās, bet brīvā PSA / PSA attiecība nemainījās (3.2. tabula). Korelatīvā analīze parādīja, ka pētījuma sākumā starp onkomarķieri PSA un LPO rādītājiem – H_{maks} un S_{oks} – pastāvēja pozitīva korelatīva saistība, bet 3. mēn. saglabājās korelatīvā saistība ar plazmas kopējo oksidējamību – S_{oks} (3.9. tabula). Iegūtie rezultāti liecina, ka AO arī turpmāka izrakstīšana būtu nepieciešama šūnas antioksidatīvās aizsardzības palielināšanai.

Izvērtējot kombinētu divu antioksidantu – sinerģistu VE un Se – lietošanas aizsargājošo efektivitāti pret OS, bija konstatēts, ka vispirms sāka samazināties HL parametri – plazmas oksidējamība (S_{oks}) jau no 3. mēn., pēc tam lipīdu hidroperoksīdi (H_{maks}) no 6. mēn., kam sekoja lipīdu peroksidācijas ātruma ($tg\alpha$) un LPO galaprodukta TBS_MDA samazināšanās 12. mēnesī. Atšķirībā no *Placebo* grupas pētījuma beigās līdz ar LPO samazināšanos AO aizsardzība (TAS, VE un Se), nevis samazinājas, bet pieauga. Jāatzīmē, ka pirmajos trijos pētījuma mēnešos tika konstatēta TAS samazināšanās un tendence samazināties TBS_MDA daudzumam – tas izpaudās ciešā pozitīvā korelācijā starp abiem rādītājiem (3.7. B attēls). Varētu pieņemt, ka pirmajos trīs mēnešos kopējie antioksidanti (TAS) maksimāli tika izmantoti lipīdu peroksidācijas procesa mazināšanai. Kopējie

antioksidanti ir plazmas ūdenī šķīstošo antioksidatīvo substanču summa, un tie neitralizē ASF pirms tās ir “uzbrukušas” šūnu membrānām. E vitamīna un Se papildus lietošana sekmēja TAS pieaugumu turpmākajā pētījuma posmā, līdztekus panākot lipīdu peroksidācijas ātruma (t_{ga}) samazināšanos. E vitamīns varēja veicināt arī otru Se darbības virzienu organismā – tā iekļaušanos GPx aktīvaja centrā, līdz ar to aktivizējot un palielinot enzimatisko AOS aizsardzību. Pētījumā atklājās, ka lipīdu hidroperoksīdi ($H_{maks.}$) sāka samazināties no 6. mēn. līdz 12. mēn., kas liecina, ka šajā laika posmā hidroperoksīdu daudzuma kritums varētu būt saistīts ar GPx darbības aktivizēšanos un izpausties kā hidroperoksīdu noārdīšanas reakcijas, kuru gala iznākums ir LPO viena no gala produktiem – MDA – veidošanās.

VE + Se grupā pozitīva korelācija starp TAS un LPO rādītājiem, kā TBS_MDA un t_{ga} bija konstatēta 12.mēnesī, bet ar TBS_MDA sākuma posmā – 3. un 12. mēn. (3.7. attēls un 3.4. tabula). Korelatīvā saistība starp VE un Se pastāvēja pētījuma 12.mēn. (3.4. tabula), kad tika konstatēta statistiski ticama Se palielināšanās plazmā. E vitamīna pieaugumu pētījuma dalībnieku asins plazmā nodrošināja tā endogēnā uzņemšana, kā arī Se, kurš var mazināt vitamīna utilizāciju kuņģa un zarnu traktā. Endogēni ievadītais VE uzkrājas mikrosomās un reģenerējas ar askorbīnskābes, GSH un KoQ₁₀ palīdzību (1.2. att. 9., 10. reakcija). Plazmā Se iekļaujas kā Se-Cys selēnproteīnā P un savienojas kā Se-Met ar ALB. Zināms, ka klastogēno faktoru veidošanās ir pastarpināta un saistīta ar superoksīdanjoniem un to darbības mehānismiem un ka VE spēj nomākt NADPH-oksidāzes un ksantīnoksidāzes un līdz ar to – paša superoksīdanjona radikāļa veidošanos. Aktīvās skābekļa formas, kuras veidojas NADPH-oksidāzes klātbūtnē, ir ierosinātais COX-2 ekspresijai, kas savukārt sekmē vēža attīstību [Harris *et al.*, 2005]. Tādējādi arī VE var netieši, līdzīgi kā tas notiek Se darbības gaitā, regulēt enzīma COX darbību. Pēc literatūras datiem secināms, ka Se, aktivējot 5'-adenozīnmonofosfāta aktivēto proteīnkināzi (šūnas enerģijas homeostāzes nodrošinātājs) caur COX-2 / prostaglandīna E₂ signālsistēmu, samazina COX-2 ekspresiju, [Hwang *et al.*, 2006]. VE + Se gr. onkomarkķieri PSA un CEA pētījuma laikā nav mainījušies un paliek normas robežās, kas ļauj secināt, ka, lietojot VE un Se 12 mēn. garumā, nebija saslimstības provocēšanas riska (3.2. tabula).

Tādējādi VE + Se gr. AO aizsardzību varētu izskaidrot, nevis ar tiešu COX-2 inhibēšanu, bet ar superoksīda radikāļu veidošanās samazināšanos un membrānstabilizējošo efektu.

Ibuprofēna kā monopreparāta lietošanas periodā konstatētas viļņveida izmaiņas visos noteiktajos rādītājos. Pēc pirmo trīs mēnešu IBF lietošanas, ticami kritās visi HL rādītāji, ko varētu skaidrot ar IBF piemītošajām un zināmā mērā specifiskajām AO īpašībām, kuras izpaužas spējā pārķert ASF un kavēt COX darbību. Nākamajos pētījuma posmos, t. i., 6. mēn.

šie rādītāji ticami paaugstinājās, un 12. mēn. tiem bija tendence samazināties. Pieļaujam, ka Černobiļas AES avārijas likvidētājiem, kā ļoti atšķirīgai pacientu grupai, asins plazmā IBF noteiktos apstākļos var izrādīt prooksidatīvās īpašības, bet, pateicoties endogēnajām VE rezervēm organismā, LPO līmenis nepieaug, drīzāk pat var runāt par nelielu peroksidācijas procesu samazināšanos, saglabājot LPO rādītājus pētījuma sākuma posma līmenī. Vidēji cieša pozitīvā korelācija 3. mēn. starp VE un TBS_MDA (3.8. B attēls), kā arī VE ar Se (3.8. A attēls) pamato to sinerģistisko sadarbību.

Jāatzīmē, ka IBF grupā lipīdu hidroperoksīdi ($H_{maks.}$) pētījuma beigās saglabā ticami augstāku koncentrāciju organismā, ja to salīdzina ar pārējām pētījuma grupām. Paaugstināts lipīdu hidroperoksīdu līmenis ($H_{maks.}$) liecina par vāju antiperoksidatīvo darbību, kuru vajadzētu nodrošināt GPx.

GPx darbībai, kā zināms, nepieciešams gan Se, gan GSH. Endogēnajam asins plazmas Se IBF grupā bija tendence samazināties, un pētījuma beigās tā lielums bija zemāks par pieņemto normu 80–120 $\mu\text{g/L}$. Par Se nozīmi LPO – tāpat kā *Placebo* gr. – liecina konstatētā vidēji cieša negatīvā korelācija 6. mēn. starp Se un lipīdu peroksidācijas ātrumu ($tg\alpha$) (3.9. attēls).

Tāpat kā *Placebo* gr. arī IBFgr. pēc sešus mēnešus ilgas preparāta lietošanas, sāka samazināties VE, kas liecina par tā endogēno rezervju izsīkšanu. Tādējādi IBF kā monopreparāta lietošana ir efektīva pirmos trīs mēnešus. Pieņemot, ka IBF ir vājš AO, bet ilgstoši lietots var kļūt arī par prooksidantu, tā lietošanai ilgākā laika posmā nepieciešams papildus izrakstīt kādu (kādas) AO, lai mazinātu LPO produktu veidošanos un vienlaicīgi aktivizētu enzimatisko AOS. Pētījuma 6. mēn., salīdzinot ar 3. mēn., tika konstatēts, ka lipīdu peroksidācijas ātrums ($tg\alpha$) un CEA daudzums palielinājās tuvu statistiski ticamam, bet korelatīvā saistība netika konstatēta. Toties 12. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, būtiski pieauga onkomarķiera CEA daudzums, kuram bija vidēji cieša pozitīvā korelācija ar pieaugošo TBS_MDA daudzumu (3.14. attēls).

Vēlākajos pētījuma posmos grupās, kurās lietoja IBF, TAS līmenis praktiski saglabājās nemainīgs. Korelācijas analīze parādīja, ka pētījuma beigās IBF gr. starp TAS un LPO rādītājiem $S_{oks.}$ un $tg\alpha$ pastāvēja cieša negatīvā korelācija (3.10. attēlu). Acīmredzot esošais TAS līmenis ir nepietiekošs, lai mazinātu LPO rādītājus.

Ibuprofēnakā monopreparāta lietošana neietekmēja TBS_MDA daudzumu, turpretī grupās, kurās tas tika lietots kopā ar VE + Se, LPO produktu daudzuma samazināšanās sākās pēc 6. mēn., bet pētījuma beigās tas bija statistiski ticami pazemināts, salīdzinot ar sākuma posmu. Kompleksajā grupā (VE + Se + IBF) Se koncentrācija ticami pieauga jau 6. mēn., un tajā pašā laikā sākās HL un TBS_MDA rādījumu kritums, pētījuma beigās sasniedzot ticamas

atšķirības salīdzinājumā ar pētījuma sākumā konstatēto. Iespējams, Se daudzuma pieaugums organismā sekmēja pašas GPx un tās enzimatiskās aktivitātes pieaugumu, tādējādi veicinot ātrāku un pilnīgāku peroksīdu neitralizēšanu, pārvēršot tos par mazāk agresīvajiem LPO gala produktiem. Atšķirībā no VE + Se gr., jau pētījuma 6. mēn. bija konstatēts, ka starp Se un VE pastāv pozitīva vidēji cieša korelatīva saistība, kas liecina par to sinerģistisko sadarbību, kuras rezultātā tiek sekmēta Se iekļaušana GPx aktīvajā centrā, līdz ar to aktivizējot un palielinot antiperoksidatīvo šūnas aizsardzību. Ja VE + Se + IBF gr. pētījuma sākumā TAS daudzums korelēja negatīvi ar LPO rādītājiem, tad 6. un 12. mēn. korelācija ar LPO rādītāju TBS_MDA bija pozitīva. Iespējams, ka LPO rādītāju pieaugums 6. mēn. ierosināja kā atbildes reakciju AO ekspresiju *red-oks* statusa saglabāšanai šūnā. Lai gan bija konstatēts, ka LPO metabolīti samazinājās, tomēr pozitīvā korelācija starp TAS un TBS_MDA liecina, ka “spriedze” starp antioksidantiem un prooksidantiem vēl joprojām pastāv.

Pēc literatūras datiem konstatēts, ka NPL, pie kuriem pieder arī IBF, piedalās proapoptiskajās darbībās šūnā. Ciklooksigenāzes inhibēšanas un līdz ar to arī prostaglandīnu sintēzes samazināšanās rezultātā nesadalītā arahidonskābe uzkrājas un ar sfingomielināzes palīdzību tiek pārvērsta ceramīdos, kuri ir spējīgi ātri ierosināt apoptozi. Šādi ceramīdi veic starpnieka lomu NPL proapoptiskajās darbībās [Adachi *et al.*, 2007]. Uz sinerģisma mehānisma pamata starp VE un Se var preventēt prostatas vēzi. Kombinēta VE un Se lietošana kavē šūnu augšanu, galvenokārt pieaugošā apoptozes atbildes reakcijā. Par apoptozes ierosināšanas mehānismu atbildīgi varētu būt atšķirīgie kaspāžu aktivācijas signālsistēmas mehānismi [Zu *et al.*, 2003]. Pozitīva korelatīva saistība starp VE un Se, kā tika minēts, bija konstatēta VE + Se gr. 12. mēn., bet VE + Se + IBF gr. jau 6. mēnesī.

3.2. tabulā redzams, ka onkomarķieri statistiski ticami palielinājās 12 mēnešu laikā pētījuma grupās, kurās nelietoja AO, turklāt *Placebo* gr. palielinājās CEA, PSA un brīvais PSA, bet IBF gr. – CEA onkomarķieris. VE + Se + IBF gr. netika konstatētas izmaiņas onkomarķieru rādītājos. Tā kā šīs izmaiņas bija references vērtību robežās, nevar apgalvot, ka konstatēti riski, kuri varētu provocēt un / vai veicināt saslimstību ar onkoloģiskajām slimībām. Ja salīdzina onkomarķieru izmaiņas starp grupām, tad visefektīvāk darbojas IBF kombinētā lietošana ar VE+Se, jo šajā grupā netika konstatētas statistiski ticamas onkomarķieru daudzuma izmaiņas. Konceptijai par IBF kopterapijas ar antioksidantiem izmantošanu ir gan preventīvs, gan arī terapeitisks efekts ceļā uz ļaundabīgo jaunveidojumu rašanās iespēju samazināšanu pacientiem, kuri pakļauti ilgstoša OS iedarbībai.

Ņemot vērā IBF nozīmi pretiekaisuma darbībā un arī tā ietekmi tajās norisēs, kuras saistītas ar šūnas apoptozes mehānismiem, uzskatām, ka ilgstošas IBF lietošanas gaitā ir pamatoti to kombinēt kopā ar membrānstabilizējošiem AO gan lipīdos šķīstošajiem, kāds ir,

piemēram, tokoferols, gan ūdenī šķīstošajiem, kādi ir selēna savienojumi, kuri reizē regulē *red-oks* statusus. Pētījuma dati liecina, ka šāda preparātu kombinācija ir efektīva ilgstošā lietošanā. Lai gan IBF lietošana kursa terapijai tiek uzskatīta par relatīvi drošāku attiecībā uz gastrointestinālām blaknēm, tomēr, lai mazinātu gastrointestinālo blakņu risku, iesaka pavadīto aizsargterapiju. Tādēļ nākamajā pētījumā, izvērtējot IBF kombinētās lietošanas ar AO efektivitāti, pētījuma dalībnieki papildus saņēma protonu sūkņa inhibitoru omeprazolu (Om), turklāt pētījuma laiks bija samazināts līdz sešiem mēnešiem.

Netika konstatēta izšķirīga Se loma onkomarkķieru daudzuma izmaiņās. Vienīgi Se deficīta apstākļos (6. mēn.) izdevās konstatēt negatīvu korelāciju ar lipīdu peroksidācijas ātrumu, kas var izraisīt zināmu interesi, jo LPO ir ievērojami augsta saikne ar onkoģenēzes procesu eskalāciju.

Lai gan LPO rādītāji VE + Se un VE + Se + IBF gr. pētījuma beigās mazinājās, tomēr tika konstatēta pozitīva korelācija starp antioksidantiem un prooksidantiem, t. i., VE + Se gr. 0, 3., 12. mēn., bet VE + Se + IBF gr. 6. un 12. mēn. norāda, ka pastāv OS spriedze. Acīmredzot AO spēja tikai kavēt, bet ne pilnībā inhibēt pārlikto LPO.

II pētījums

Ibuprofēna kombinētas lietošanas ar selēnu un koenzīmu Q₁₀ ietekme uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem

Pētījuma sākumā starp AOS rādītājiem un LPO metabolītiem pastāvēja cieša pozitīva korelācija, kas liecina, ka, atbildot uz OS palielināšanos, pieaug arī AO aizsardzība. Cieša pozitīva korelācija konstatēta Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā starp MDA + 4-HNE un VE, MDA un VE (3.21. attēls), Se + KoQ₁₀ grupā – starp Cu, Zn-SOD un 4-HNE (3.24. attēls), KoQ₁₀ + IBF + Om grupā – starp ALB un 4-HNE (3.13. tabula).

Šajā pētījumā IBF lietošana bija kombinēta, nevis ar VE, bet ar KoQ₁₀.

Kādas ir KoQ₁₀ priekšrocības, salīdzinot ar VE antioksidatīvajās un antiradikālajās aktivitātēs? Koenzīmam Q₁₀ organismā ir specifiskas ubihinonatkārīgās oksidatīvi reducējošās fermentu sistēmas, turklāt to koncentrācija biomembrānās ir 3–5 reizes lielāka. Zināms, ka ārējais membrānas monoslānis ir vairāk piesātināts ar taukskābēm, pateicoties fosfatidiletanolamīnam un fosfatidilholīnam, nekā iekšējais, kur pārsvarā ir fosfatidilserīns. E vitamīns pārsvarā lokalizējas tuvāk šūnas ārējai membrānai, tādējādi tam ir apgrūtināta pārķert radikāļus, kuri ir iniciēti vai nokļuvuši dziļāk membrānās. Atšķirībā no VE KoQ₁₀ galvenokārt, apmēram 80% reducētā formā, atrodas iekšējās membrānās un lipoproteīnos, plazmas membrānās un intracelulārās membrānās.

Koenzīms Q_{10} tā plašās un dažādās funkcionalitātes dēļ līdz ar standartterapiju tiek rekomendēts lietošanai sirds un asinsvadu slimniekiem. Pēc literatūras datiem zināms, ka pētījumā par sirds išēmiskās slimības pacientiem, kuri 12 nedēļu garumā ik dienu lietoja pa 60 vai 150 mg KoQ_{10} , konstatēja, ka Cu, Zn-SOD aktivitāte palielinājās 12. nedēļā, bet GPx aktivitāte nemainījās. Malondialdehīda daudzums būtiski samazinājās lielākās devas ietekmē jau pēc četrus nedēļu ilga kursa [Bor-Jen Lee et al., 2012].

Šajā pētījumā, izvērtējot dinamiskā dažādu preparātu kombināciju ietekmi uz enzīmu antiradikālo un antiperoksidatīvo darbību, bija konstatēts, ka Cu, Zn-SOD aktivitāte būtiski palielinājās dalībnieku grupās, kurās KoQ_{10} tika lietots kopā ar Se, tajā pašā laikā arī GPx aktivitātei bija tendence pieaugt. Černobiļas AES avārijas sekas likvidētājiem, kuri lietoja KoQ_{10} + IBF + Om, Cu, Zn-SOD aktivitāte nemainījās, bet GPx aktivitāte būtiski samazinājās. Par to, ka $O_2^{\cdot -}$ iekļauts onkoģenēzē, liecina Se + KoQ_{10} + IBF + Om grupā konstatētās ciešas negatīvās korelatīvās saistības starp Cu, Zn-SOD un CEA (3.28. attēls) pētījuma beigās.

Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās varētu būt izskaidrojama divējādi – vai nu kā AOS aktivizēšanās (pateicoties Se tiek ierosināta Cu, Zn-SOD gēnu ekspresija), vai arī kā atbildes reakcija uz superoksīdanjona radikāļa pieaugumu organismā, kur tie veidojas flavīndeģidrogenāžu un NAD-deģidrogenāžu katalizētās *red-oks* reakcijās – kā, piemēram, glutationreģuktāze (GR).

Glutationreģuktāzei ir būtiska loma GSH potenciāla uzturēšanai, piegādājot reducētos ekvivalentus no pentozofosfātu metaboliskā ceļa, un tās aktivizēšanās varētu būt saistīta ar nepieciešamību pēc substrāta GPx enzīmu saimes darbībai. GSH, kā zināms, ir substrāts GPx, kas katalizē peroksīdu H_2O_2 un LOOH sadalīšanu mazāk toksiskos metabolītos. Selēns ir GPx integrālais komponents, par ko liecina pozitīvā korelācija (3.23. attēls), un nav pārsteigums, ka GPx aktivitātei bija tendence palielināties Se lietotāju grupās neatkarīgi no tā, vai konkrētajā pētījuma grupā IBF lietoja vai ne. Vienlaicīgi konstatēts, ka KoQ_{10} + IBF + Om grupā, kurā netika lietots Se, GPx aktivitāte būtiski samazinājās, kas varētu būt sekas H_2O_2 palielināšanās tendencei un / vai sekojošai Cu, Zn-SOD aktivitātes nomākšanai, ja ir nepietiekama KAT darbība. Iespējams, ka starp Cu, Zn-SOD un GPx ir kooperatīva sadarbība: nepalielinoties Cu, Zn-SOD aktivitātei, mazākā apjomā veidojas H_2O_2 un nav nepieciešamības GPx aktivizēt.

Selēna un KoQ_{10} lietošanas dēļ Se pieaugums plazmā tika konstatēts jau pēc trīs mēnešiem, bet kopā ar IBF – tikai pēc sešu mēnešu ilgas lietošanas. Līdzīgi arī I pētījumā, kur IBF lietoja kopā ar AO VE un Se, Se daudzums būtiski palielinājās 6. mēnesī.

Lielākā endogēnā AO GSH saturs mainījās viļņveidīgi, samazinoties un pēc tam pieaugot. 3.17. attēlā redzams, ka GSH daudzums 3. mēnesī būtiski samazinājās pacientu grupās, kurās bija izrakstīts IBF. To var izskaidrot šādi: IBF un tā metabolītiem ir elektrondeficītie reģioni, un tādējādi tas var daļēji reaģēt ar GSH, izraisot tā daudzuma pazemināšanos, kam sekotu OS attīstība [Fazlul, 2006]. Pateicoties IBF koplietošanai ar antioksidantiem (Se, KoQ₁₀), no 3. līdz 6. mēn. GSH daudzums palielinājās. Konstatētā vidēji ciešā negatīvā korelācija starp Cu, Zn-SOD un GSH (3.13. tabula) 6. mēn. KoQ₁₀ + IBF + Om grupā liecina, ka GSH pieaugums ir kā kompensatoriskā atbilde uz Cu, Zn-SOD nepietiekamību šūnas aizsardzībai. Reducētajam glutationsam ir būtiska loma gēna p53 mutāciju samazināšanā. Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā pastāvēja vidēji cieša negatīvā korelācija starp CEA un GSH gan pētījuma sākumā, gan beigās (3.27. attēls). Ja 3. mēn. Se + KoQ₁₀ grupā, kurā netika lietots IBF, starp GSH un PSA bija cieša pozitīvā korelācija (3.29. attēls), tad KoQ₁₀ + IBF + Om grupā šī korelācija bija negatīva, kas saistīta ar GSH būtisku samazināšanos (3.14. tabula).

Reducētā glutations daudzuma palielināšanos pētījuma beigās visās pētījuma grupās var nodrošināt, kā tika minēts iepriekš, GR, kā arī no ATP atkarīgās – γ -glutamilsteīnsintetāze un glutationsintāze. Ubihinolam difundējot membrānās, visos virzienos tiek nodrošināta udeņraža pārvešana oksidatīvajā fosforilēšanā Mth un ATP sintēze. Pēc literatūras datiem zināms, ka eksogēnā KoQ₁₀ lietošana palielina enerģijas producēšanu Mth, jo ir galvenais komponents Mth elpošanas ķēdē ATP sintēzē [Lenaz *et al.*, 1991; Bhagavan, 2006], savukārt ATP nepieciešams GSH biosintēzei, jo t. i. energoatkarīgs process. Ne mazāk svarīgu lomu makroergu sintēzē spēlē VE. E vitamīns ir ne tikai antioksidants, bet arī antihipoksants, kas izskaidro tā spēju stabilizēt Mth membrānas, kā arī optimizēt un ekonomēt skābekļa patēriņu. Līdz ar Mth membrānu stabilizēšanos palielinās oksidatīvās fosforilēšanās sajūgšana un ATP, kreatīnfosfāta veidošanās. Pētījuma rezultāti parādīja, ka VE daudzums nemainījās un bija saglabāts pietiekoši augstā līmenī visās pētījuma grupās, iespējams, pateicoties KoQ₁₀. Kā zināms, KoQ₁₀ ir sinerģists VE, tas ne tikai pasargā VE no superoksīda izraisītās oksidēšanās, bet arī reģenerē VE antioksidatīvajā procesā. KoQ₁₀ piemīt ne tikai patstāvīga antioksidatīva kapacitāte, bet tas arī nodrošina spēcīgu atbalstu citu antioksidatīvo posmu darbībai. Ja Se + KoQ₁₀ gr. 0 mēn. starp Se un VE bija negatīva vidēji cieša korelācija, tad pētījuma beigās pēc Se un KoQ₁₀ lietošanas šī korelācija bija pozitīva, kas varētu būt saistīta ar VE reģenerāciju, pateicoties gan KoQ₁₀, gan GSH (3.12. tabula, 3.25. attēls). Reducētais glutations piedalās E vitamīna reģenerācijā, izmantojot askorbīnskābi (1.2. attēls), par ko liecina konstatētā pozitīvā korelācija 6. mēn. starp GSH un VE KoQ₁₀ + IBF + Om grupā (3.26. attēls).

Zināms, ka OS izraisa membrānu vai lipoproteīnu lipīdu peroksidāciju, kā rezultātā veidojas ļoti reaktīvu un citotoksisku metabolītu kopums, piemēram, α , β nepiesātinātie reaģētspējīgie aldehīdi – MDA, 4-HNE, akroleīni un izoprostāni, kuri, piemēram, 4-HNE, var izraisīt COX-2 ekspresiju. Pētījuma sākumā KoQ₁₀ + IBF + Om grupā bija cieša pozitīva korelācija starp onkomarķieri CEA un 4-HNE (3.14. tabula), kas liecina par OS dažu metabolītu (vai visa metabolītu kopuma) iesaisti vēža attīstībā.

Šajā pētījumā LPO metabolīti MDA un 4-HNE tika noteikti, ierosinot šo procesu ar dzelzs joniem, jo, kā zināms, viens no LPO ierosinātājiem ir mainīgas valences metāli, to skaitā dzelzs joni. Ibuprofēns var inhibēt dzelzs ierosināto arahidonskābes oksidēšanos, kā arī kavēt dzelzs ierosināto $\cdot\text{OH}$ veidošanos no H₂O₂ [Kennedy *et al.*, 1990], kā arī samazināt 4-HNE veidošanos [Chakraborty *et al.*, 2007]. 4-HNE eliminācija var notikt arī ar GSH līdzdalību, ja GSH koncentrācija organismā ir pietiekami augsta.

Lai gan pētījuma gaitā VE un kopējā aldehīdu summa MDA + 4-HNE statistiski ticami nemainījās, starp šiem rādītājiem Se + KoQ₁₀ grupā pētījuma beigās bija cieša negatīva korelācija, kas liecina par VE lomu LPO kavēšanā (3.12. tabula). Tā kā α , β nepiesātināto reaģētspējīgo aldehīdu summārai koncentrācijai MDA + 4-HNE visās grupās bija tendence samazināties, izvērtējām katru metabolītu atsevišķi.

3.10. tabulā redzams, ka pēc sešiem mēnešiem MDA samazinājums bija novērojams tajās pētījuma grupās, kurās IBF lietoja kompleksā ar antioksidantiem. Kaut arī Se tiek iedalīts tā saukto otrējo AO grupā, analizējot kvantitatīvās MDA izmaiņas Se + KoQ₁₀ grupā, to nebija, kas liecina, ka pie dotās Se un KoQ₁₀ koncentrācijas un AO aizsardzības sistēmas pieaugošās enzīmu darbības LPO procesi nepalielinās, bet tiek noturēti vienā un tajā pašā līmenī. Arī Pētījumā I pētāmajā grupā, kurā bija lietoti tikai antioksidanti (VE + Se) pēc sešu mēnešu ilga kursa, MDA mazināšanās netika konstatēta, tā izpaudās 12. mēnesī. Acīmredzot Černobiļas AES seku likvidētājiem sešus mēnešus ilgs AO lietošanas kurss neveicina LPO samazināšanos, bet tam ir vajadzīgs, iespējams, ilgāks periods, pat līdz 12 mēnešiem. Malondialdehīda daudzuma samazinājumu Se + KoQ₁₀ + IBF + Om grupā nodrošina gan Cu, Zn-SOD un GPx aktivitāšu palielināšanās, gan GSH pieaugums, gan IBF spēja pārķert mainīgas valences metālus, kā arī pietiekoši augstais VE līmenis. Turpretī KoQ₁₀ + IBF + Om grupā, kuras dalībnieki nesaņēma Se un GPx aktivitāte būtiski samazinājās, varētu prognozēt, ka līdz ar to pieaugtu hidroperoksīdu daudzums un sekojoši arī MDA daudzums. Acīmredzot šādā situācijā būtisku lomu LPO regulēšanā ieņem viens no GPx enzīmu saimes enzīmiem Se neatkarīgā GPx, t. i., GST, kura sadala lipīdu hidroperoksīdus un līdz ar to kavē LPO gala produkta MDA veidošanos. Jāatzīmē, ka GST – atšķirībā no GPx – nešķel vai citādi nepārveido H₂O₂.

Attiecībā uz otro LPO noteikto metabolītu 4-HNE bija konstatētas izmaiņas pretējas atklātajām attiecībā uz MDA. Būtiski 4-HNE samazinājās Se + KoQ₁₀ grupā. To varētu daļēji izskaidrot ar ALB pieaugumu šajā grupā jau 3. mēnesī. Līdz ar ALB pieaugumu palielinās arī tās reducētā forma, tas ir, palielinās Cys-34, kas spējīgs pārķert radikāļus un mazināt LPO blakusproduktus, piemēram, 4-HNE. Cieša negatīva korelācija starp MDA + 4-HNE un VE (3.12. tabula) pētījuma beigās liecina arī par VE ietekmi uz LPO procesu inhibēšanu. Pētījuma dalībnieku grupās, kurās lietoja IBF, ALB pieaugums bija tuvu statistiski ticamam, maksimumu sasniedzot 6. mēnesī, tāpat paralēli 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties.

Albumīns tiek uzskatīts par galveno ārpusšūnas molekulu, kura atbild par *red-oks* stāvokli asins plazmā. Albumīns satur sešus Met un 35 Cys atlikumus, kuri veido 17 disulfīdu saites. Cys-34 atlikums ir vienīgais brīvais Cys visā molekulā. Albumīna antioksidatīvā aktivitāte galvenokārt izpaužas tā spējā pārķert brīvos radikāļus, kā arī vairāku ligandu saistīšanas spējā – taukskābju, zāļu, hormonu, metāla jonu. Zināms, ka IBF un Se-Met organismā tiek pārnēsāts ar ALB palīdzību. Pievienojot mainīgas valences metālus, tiek kontrolēta to reaktivitāte (prooksidatīvā) un ierobežota to pieejamība Fentona reakcijas realizēšanai. Netiešas antioksidatīvās spējas ALB izrāda, saistoties ar bilirubīnu, kas var kalpot par iemeslu LPO kavēšanas procesiem. Otrs iespējamais ceļš, kā tiek kavēts LPO process, ir sasaistīšanās ar nepiesātinātām taukskābēm. Viena trešdaļa no ALB eksistē kā disulfīdi, kas sajaukti ar Cys, homocisteīnu vai GSH, bet divas trešdaļas eksistē reducētā formā ar brīvo tiolu Cys-34 atlikumā, kuram ir lielāka kapacitāte brīvo radikāļu pārķeršanā. Par ALB sasaisti ar GSH liecina arī konstatētā pozitīvā korelācija Se + KoQ₁₀ gr. pētījuma sākumā (3.12. tabula). Albumīns, būdams sēru saturošo aminoskābju avots GSH sintēzei, var piedalīties šūnu aizsardzībā pret OS. Cys-34 atlikums ir spējīgs pārķert dažādus radikāļus – H₂O₂, peroksinitrītu, superoksīdanjonu un hipohlorskābi un veidot kovalentus aduktus ar lipīdu oksidācijas elektrofilajiem blakusproduktiem, piemēram, 4-HNE [Aldini *et al.*, 2006].

Pēc literatūras datiem secināms, ka bez COX-1, COX-2 un 5-lipoksigenāzes inhibēšanas spējām, IBF var palielināt 15-lipoksigenāzes aktivitāti [Rainsford, 2003], bet, kā zināms, tā ir saistīta ar 4-HNE enzimatisko veidošanos no arahidonskābes (1.12. attēls). Iespējams, tādēļ pētījuma grupās, kuru dalībnieki lietoja IBF, 4-HNE samazināšanās bija mazāk izteikta. Literatūrā minētā IBF spēja mazināt 4-HNE varētu būt saistīta ar tā varēšanu pārtvert mainīgas valences metālus. Konstatētais fakts, ka 4-HNE tomēr visās pētījuma grupās nepalielinājās, ir arī saistīts ar tā elimināciju, pateicoties GSH pieaugumam.

Kopumā noteiktie onkomarķieri CEA, PSA un brīvais PSA nemainījās, izņemot Se + KoQ₁₀ grupā 3. mēnesī bija konstatēta statistiski ticama CEA daudzuma palielināšanās,

kas nepārsniedza noteiktos references intervālus (ne > 2,5 ng/ml). Tā kā šīs izmaiņas bija references vērtību robežās, nevar apgalvot, ka konstatēti riski, kuri varētu provocēt un / vai veicināt saslimstību ar onkoloģiskajām slimībām.

Tādējādi iegūtie dati liecina, ka IBF ir jālieto kompleksi ar Se un KoQ₁₀ vismaz sešu mēnešu garumā, jo tas nodrošina antioksidatīvās aizsardzības sistēmas antiradikālās un antiperoksidatīvās darbības enzīmu aktivēšanos, VE reģenerāciju, neenzimātisko AO GSH, ALB un Se palielināšanos, kā arī LPO kavēšanu.

Vienu pašu antioksidantu lietošanai lielāks efekts būtu sagaidāms ilgākā laika periodā. Šajā pētījumā papildu AO efektu dod arī omeprazols, kuram piemīt AO īpašības [Lapenna *et al.*, 1996].

III pētījums

Dažu polifenolus saturošu preparātu atšķirīgu devu ilgstošas lietošanas efektivitāte uz oksidatīvā stresa rādītāju izmaiņām 2TCD pacientiem

Pētījuma sākumā iegūtie dati liecina, ka 2TCD pacientiem hiperglikēmijas un hiperlipidēmijas izraisītai glikotoksicitātei un lipotoksicitātei ir nepietiekama endogēno enzīmātiskās un neenzimātiskās dabas antioksidantu kompensatoriskā atbilde, kas liecina par OS dalību diabēta patoģenēzē. Sākotnējie dati liecina, ka visās pētījuma grupās tādu OS rādītāju kā LOOH, MDA, 4-HNE, PK saturs bija augstāks, bet enzīmātisko AO aizsardzības rādītāju Cu, Zn-SOD, GPx un KAT aktivitātes – zemākas par normu. Neenzimātiskās AO sistēmas rādītāji TAS un VE bija normas robežās. Apmēram 60% 2TCD pacientiem Se daudzums bija zemāks par noteikto normu, t. i., zem 80 µg/L, ar ko varētu daļēji izskaidrot arī Se atkarīgā enzīma GPx pazemināto aktivitāti (3.35. attēls). Se, kā zināms, ir iesaistīts vairāk kā 100 reakcijās, kā arī dažādos metabolisma procesos organismā, to skaitā – sirds un asinsvadu patoloģijas, iekaisuma procesi, hormonu aktivizēšana (piemēram, 5-dejonidāzes) u. c.

Hiperglikēmijas apstākļos Cu, Zn-SOD pazemināšanās varētu būt saistīta ar šā enzīma glikozilēšanos un līdz ar to samazinātu superoksīda radikāļu dismutēšanu līdz H₂O₂. No glikozilētā Cu, Zn-SOD atbrīvojies Cu²⁺ var iestāties Fentona reakcijā ar H₂O₂, producējot OH, kas savukārt spēj šķelt nukleāro DNS un var izraisīt neatgriezenisku diabēta stāvokļa pasliktināšanos [Kaneto *et al.*, 1994].

OS samazināšana kā regulējošs mehānisms, izmantojot endogēno AO sistēmu, ir svarīgs faktors, kas ļauj mazināt diabēta ģenēzi un tā izraisīto komplikāciju rašanos.

Zaļās tējas lietošana papildu standartterapijai veicināja Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanos 9. mēn., bet neietekmēja VE un TAS daudzumu, kā arī GPx un KAT aktivitātes. Pēc literatūras datiem redzams, ka pētījumā ar metabolo sindromu pierādīja, ka astoņu nedēļu ZT ekstrakta (kapsulas) lietošana neietekmē karotenoīdu, VE, GPx, KAT, Se, Zn un Cu parametrus, toties samazina dzelzs jonu saturu un paaugstina GSH līmeni [Basu *et al.*, 2013].

Pētījuma sākumā un 9. mēn. tika konstatētas negatīvas korelācijas KAT ar GPx un Cu, Zn-SOD. Tā pētījuma sākumā konstatētā tendence negatīvai korelatīvai saistībai starp KAT un GPx liecina, ka, samazinoties KAT aktivitātei, H_2O_2 šķelšanās galveno lomu ieņem GPx. Pierādīts, ka KAT spēj saistīt NADP un, kad šūna atrodas peroksidatīvā stresa stāvoklī, atbrīvojot $NADP^+$, kas aktivē no NADPH atkarīgo glutathionreduktāzi un stimulē GPx utilizēt H_2O_2 [Gaetani *et al.*, 1989].

Ja pētījuma sākumā bija konstatēta negatīva tendence korelatīvai saistībai Cu, Zn-SOD ar KAT, tad 9. mēn. šī saistība bija statistiski ticama (3.19. tabula). Ņemot vērā, ka Cu, Zn-SOD aktivitāte nozīmīgi bija palielinājusies, tad būtu jāpalielinās H_2O_2 . Tā kā ar KAT pastāvēja negatīvā korelācija, tad H_2O_2 šķelšanās pārsvars, tāpat kā sākuma posmā, ir GPx. Tāpat jāņem vērā, ka ZT sastāvā esošais EGCG spēj pārtvert H_2O_2 .

E vitamīna saturs, lietojot ZT, nemainījās salīdzinājumā ar pārējām pētījuma grupām, kurās tā saturs savukārt mazinājās. Šie dati liecina, ka ZT polifenoli spēj efektīvi aizsargāt biomembrānas no VE izsīkšanas. Šādi apstākļi veidojas, jo ZT saturošais EGCG ne tikai spēj veidot metāla helāta kompleksus, pārķert superoksīdus, H_2O_2 , $\cdot OH$ un $O_2^{\cdot -}$, bet arī reģenerēt tokoferolus [Ratnam *et al.*, 2006; Gawlik *et al.*, 2007].

E vitamīna pakāpenisku samazināšanos asins plazmā *Placebo*, GB un GV grupā varētu izskaidrot divējādi. Zināms, ka enzimatiskie antioksidanti ir pirmie, kuri sāk pretdarbību neregulējamam brīvo radikāļu pieaugumam organismā, un, iespējams, ka ilgstoša dabisko antioksidantu lietošana un enzimatisko antioksidantu aktivitātes palielināšanās VE (lipīdos šķīstošo antioksidantu) vai nu “nobīdīja” otrajā aizsardzības aktivitāšu līnijā, vai novirzīja uz depo orgāniem gadījumiem, ja pirmējie antioksidanti netiek galā ar brīvo radikāļu pārprodukciju.

Lipīdu hidroperoksīdu daudzums nozīmīgi samazinājās 9. mēn., kas ļauj izdarīt secinājumu, ka 400 mg ZT standartizētā lapu ekstrakta lietošana dienā var pārtraukt LPO tās “attīstības jeb turpināšanās” posmā un līdz ar to mazināt LPO gala produktu – MDA, 4-HNE – veidošanos. Cieša negatīva korelācija (3.19. tabula un 3.38. attēls) starp GPx un LOOH

pētījuma sākumā (0 mēn.) un beigās (18. mēn.) liecina par šā enzīma lomu LPO nepietiekošā kavēšanā abos tā posmos. Zināms, ka GPx aizsargā šūnas no oksidatīviem bojājumiem, samazinot H₂O₂ un organiskos peroksīdus, izmantojot GSH. Pētījuma dati apliecina, ka 9. mēn. MDA daudzums statistiski ticami samazinājās, 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties, bet 18. mēn. pieaugt. Aldehīdu kopējai summai visu pētījuma laiku bija tendence palielināties uz 4-HNE daudzuma rēķina. Lipīdu hidroperoksīdu un MDA samazināšanās 9. mēn. varētu būt arī saistīta ar ZT saturošā EGCG spēju helatēt mainīgas valences metālus, reģenerēt VE.

Ciešā negatīva korelācija 9. mēn. TAS ar 4-HNE un MDA + 4-HNE (3.19. tabula, 3.39. attēls) apliecina, ka šūnās jābūt pietiekošam ūdenī šķīstošo antioksidantu daudzumam, (to skaitā GSH), kuri spēj ietekmēt LPO procesa iniciāciju un līdz ar to kavēt 4-HNE veidošanos.

Pēc iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka visefektīvāk ZT darbojas laika posmā līdz 9. mēn., kad pacienti saņēma 400 mg ZT standartizēto lapu ekstraktu dienā, salīdzinot ar 18. mēn. – 600 mg. Pēc literatūras datiem redams, ka, barojot jūras cūciņas ar fruktozi un papildus dodot ZT pa 1 g un 2 g, labāki rezultāti attiecībā uz MDA un TG samazināšanos, SH- pieaugumu, DNS bojājumu mazināšanos uzrādīja ZT mazākā deva [Hininger-Favier et al., 2009]. Vairums eksperimentu parādīja, ka relatīvi zemas flavonoīdu koncentrācijas var stimulēt GSH sintēzes gēna transkripciju [Moskaug et al., 2005].

2TCD pacientiem, kuri papildu standartterapijai saņēma *Ginkgo biloba* lapu standartizēto sauso ekstraktu, kas saturēja 19,2 mg *Ginkgo* flavonglikozīdus (kvercetīnu, kemferolu, izoramnetīnu) un 4,8 mg terpēnlaktonus (ginkolīdus, bilobalīdus), nozīmīgi samazinājās OS rādītāji – LOOH 9. mēn., bet MDA un 4-HNE 18. mēnesī. Lipīdu hidroperoksīdu daudzuma samazināšanās 9. mēn. ļauj izdarīt secinājumu, ka GB papildterapija (mazā deva) tāpat kā ZT var pārtraukt LPO tās “attīstības jeb turpināšanās” stadijā un līdz ar to mazināt LPO gala produktu (MDA, 4-HNE) veidošanos. Vidēji cieša negatīva korelācija 9. mēn. starp Cu, Zn-SOD un LOOH liecina, ka, pieaugot enzīma aktivitātei, pilnvērtīgāka kļūst superoksīdanjonu dismutācija un līdz ar to samazinās LPO (3.20. tabula, 3.40. attēls).

Flavonoīdiem, atšķirībā no fenola dabas AO (tokoferoliem), piemīt ne tikai tieša antiradikāla darbība, bet tie spējīgi saistīt mainīgas valences metālus, veidojot helāta kompleksus, kuri var kavēt ar brīvajiem radikāļiem saistītos procesus. Pēc literatūras datiem zināms, ka kvercetīnam ir lielākas potences nekā katehīniem helatēt vara un dzelzs jonus [Paganga et al., 1996], ar ko varētu izskaidrot nozīmīgo LPO rādītāju MDA un 4-HNE samazināšanos, salīdzinot ar ZT darbību. Visefektīvākie “slazdi” skābekļa anjonradikāļiem ir

tieši flavonoīdu kompleksi ar vara joniem. Līdz ar LOOH samazināšanos, tendence samazināties 9. mēn. bija arī 4-HNE daudzumam, bet statistiski ticamas atšķirības bija sasniegtas 18. mēnesī. LOOH samazinājums, iespējams, saistīts arī ar GPx aktivēšanos, lai gan tās paaugstināšanās nebija statistiski ticama, šeit varētu runāt par stabilu pieauguma tendenci, kā arī ar endogēnā VE izmantošanu. Statistiski ticami GPx palielinājās 9. mēn. vien 2TCD pacientiem, kuriem nebija konstatēts Se deficīts (3.16. tabula). Lipīdu hidroperoksīdu sadalīšanā varēja piedalīties Se neatkarīgā GPx, t. i., GST.

Nēmot vērā, ka flavonoīdi ir spējīgi autooksidēties, sevišķi kvercetin un kempferols, un radušies starpprodukti ir prooksidanti, svarīga loma ir tieši Cu, Zn-SOD, jo tā spēj kavēt šo autooksidēšanos. Jāņem vērā, ka flavonoīdi augstās koncentrācijās var producēt brīvos radikāļus caur autooksidēšanos un palielināt Mth "oksidatīvo (elpošanas) sprādzienu".

Pēc literatūras datiem secināms, ka *Ginkgo biloba* ekstrakts samazina MDA daudzumu 2TCD pacientu trombocītos [Kudolo et al., 2005], palielina KAT un Cu, Zn-SOD aktivitātes [Bridi et al., 2001]. Pētījumā konstatēts, ka *Ginkgo biloba* pirmos deviņus mēnešus aktivēja Cu, Zn-SOD, bet 18. mēn. šis paaugstinājums bija tuvu statistiski ticamam. Katalāzes aktivitāte statistiski ticami pieauga 18. mēn., salīdzinot ar 9. mēn., un nodrošināja H₂O₂ šķelšanu mazāk toksiskos savienojumos, un samazināja šūnai bīstamā •OH producēšanu. Konstatētā negatīvā korelācija starp KAT un GPx, liecina, ka pārsvars antiperoksidatīvai darbībai pētījuma beigās ir KAT. Katalāzes aktivitātei pētījuma sākumā un beigās bija pozitīvas vidēji ciešas korelatīvas saistības ar LPO rādītājiem – aldehīdu summu MDA + 4-HNE un 4-HNE. Iespējams, ka LPO metabolīti inducē KAT gēnu ekspresiju un tādējādi ataino šūnas adaptīvo atbildi uz OS. Hiperglikēmijas apstākļos apmēram 30% glikozes metabolisma iet caur polioliu ciklu, izraisot ievērojamu NADPH samazināšanos un līdz ar to arī GSH, kuram ir būtiska nozīme šūnas red-oks līdzsvara uzturēšanā. Zināms, ka polifenoli, to skaitā *Ginkgo biloba* ekstrakts, spēj inducēt GSH sintēzi un aktivēt GST, un tādējādi ietekmēt šūnas red-oks stāvokli [Rimbach et al., 2001; Sasaki et al., 2002; Moskaug et al., 2005]. Lai gan šajā pētījuma netika noteikta GSH koncentrācija, varētu izsacīt spekulatīvu pieņēmumu, ka GB veicināja GSH sintēzi *de novo* 2TCD pacientiem, tādējādi ieņemot būtisku lomu 4-HNE detoksifikācijas realizēšanā, kā gala produktus veidojot konjugātus neenzimātiskā ceļā vai katalizējot ar GST palīdzību.

Iegūtie dati liecina, ka *Ginkgo biloba* ekstrakta papildu pievienošana standartterapijai, izrāda lielāku efektivitāti uz OS uzlabošanu 18. mēn., kas varētu būt saistīts gan ar preparāta ilgstošāku lietošanu vai arī lielākās devas efektivitāti uz nosakāmajiem rādītājiem. Salīdzinot GB gr. pacientus ar Placebo gr., kurā saņēma standartterapiju, nozīmīga samazināšanās 9. mēn. bija KAT aktivitātei (p = 0,023), LOOH daudzumam (p = 0,008) un tuvu statistiski

ticamam – 4-HNE ($p = 0,065$), bet 18. mēn. nozīmīga samazināšanās bija MDA daudzumam ($p = 0,018$). Salīdzinot ar ZT gr., LOOH daudzums bija statistiski ticami zemāks 9. mēn. ($p = 0,042$). Salīdzinot ar GV gr. 18. mēn. tika konstatēts statistiski ticams samazinājums LOOH daudzumam ($p = 0,050$) un aldehīdu summai ($p = 0,044$).

Kombinētā preparāta *Grinvitals Cereloba®plus* ilgstoša lietošana 2TCD pacientiem nodrošināja nepārtrauktu Cu, Zn-SOD aktivāciju un MDA daudzuma samazināšanos 9. mēn., kas palika tādā pašā līmenī arī 18. mēnesī. Pētījuma sākumā vidēji cieša negatīva korelācija starp Cu, Zn-SOD un MDA (3.41. attēls) liecina par superoksīda radikāļu iesaisti MDA veidošanā. Vidēji cieša pozitīvā korelācija MDA ar VE (3.21. tabula) liecina par endogēnā VE rezervju izmantošanu LPO kavēšanai, atbildot OS.

Salīdzinot 2TCD pacientus GV gr., atkarībā no Se daudzuma plazmā, tika konstatētas statistiski ticamas atšķirības 9. mēn. Cu, Zn-SOD aktivitātei ($p = 0,015$) un VE saturam ($p = 0,047$), bet 18. mēn. – Cu, Zn-SOD aktivitātei ($p = 0,020$). Pacientiem ar zemāku Se daudzumu Cu, Zn-SOD aktivitāte ir augstāka. E vitamīns ir augstāks pacientiem bez Se deficīta, ko varētu pamatot ar abu rādītāju sinerģistisko darbību. Cu, Zn-SOD aktivitāte GV grupā 9. mēn. bija statistiski ticami zemāka, kad Se daudzums bija virs $80 \mu\text{g/L}$, salīdzinot ar *Placebo* un GB grupu ($p = 0,039$ un $p = 0,006$, attiecīgi). Toties pētījuma beigās GV gr., salīdzinot ar ZT, GB un *Placebo* gr., Cu, Zn-SOD aktivitāte bija statistiski ticami augstāka pacientiem ar Se daudzumu zem $80 \mu\text{g/L}$ ($p = 0,015$; $p = 0,027$; $p = 0,0130$, attiecīgi). Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās pētījuma beigās, iespējams, ir kompensatoriskā atbilde uz pieaugušo Se deficītu, jo pētījuma sākumā tika konstatēts, ka GV gr. 72,2% 2TCD pacientiem Se daudzums plazmā bija zemāks par normu.

Kombinētais preparāts *Grinvitals Cereloba®plus* saturēja ZT un GB lapu standartizētos ekstraktus mazākās devās, kā arī papildu ķiploka ekstraktu, kurš varētu arī ietekmēt šeit minētos noteiktos rādītājus. Pēc literatūras datiem zināms, ka ķiploku sastāvā esošās bioloģiski aktīvās vielas var paaugstināt SOD, KAT un GPx aktivitātes un palielināt GSH līmeni, kā arī mazināt LPO procesus [Wei et al., 1998; Sundaresan et al., 2003].

Kaut arī antiperoksidatīvās darbības enzīmu KAT un GPx aktivitātēm bija tendence pakāpeniski palielināties, LOOH un 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties tikai 9. mēn. un no jauna pieaugt 18. mēnesī, turklāt LOOH saturs 18. mēn. pārsniedza pat sākuma rādītājus. Iespējams, ka LOOH un 4-HNE samazinātā utilizācija 18. mēn. saistīta ar GSH nepietiekamību, kurš ir substrāts gan GPx, gan GST darbībai.

Grinvitals Cereloba®plus ilgstošā lietošana nodrošināja Cu, Zn-SOD aktivāciju, kura savukārt, dismutējot hiperglikēmijas rezultātā pieaugušos superoksīdus, nodrošināja lipīdu peroksidācijas produkta MDA samazināšanos, pārsvarā 9. mēnesī.

Placebo gr. 65,4% 2TCD pacientiem, kuri saņēma standartterapiju – metformīnu un insulīnu – Se saturs bija zemāks par normu (3.35. attēls). Konstatētās negatīvās korelācijas Se ar LOOH un MDA + 4-HNE liecina par Se lomu LPO procesā (3.18. tabula, 3.36. attēls), jo, būdams GPx integrālais komponents, tas veicina GPx aktivitātes paaugstināšanos. Pētījuma sākumā starp Se un GPx netika konstatētas statistiski ticamas korelatīvās saistības, bet tām bija tendenciozs raksturs. Salīdzinoši GPx aktivitāte pētījuma sākumā *Placebo* gr. bija zemāka nekā pārējās grupās. Se deficīta un samazinātas GPx aktivitātes apstākļos norit nepilnīga LOOH šķelšana, kā rezultātā pieaug tā daudzums un arī pārējo LPO produktu – MDA un 4-HNE – daudzums.

Pozitīvā korelācija KAT ar LOOH liecina, ka, pieaugot LPO procesam, pieaug arī AOS antiperoksidatīva darbība. Iespējams, ka LOOH inducē KAT gēnu ekspresiju un tādējādi ataino šūnas adaptīvo atbildi uz OS. Katalāzes aktivitātes paaugstināšanos *red-oks* stāvokļa līdzsvarošanai, iespējams, varēja arī sekmēt pazeminātais Se daudzums, par ko liecina negatīvā vidēji ciešā korelācija starp abiem rādītājiem

Placebo gr. pacientiem 9. mēn. bija nozīmīga Cu, Zn-SOD un GPx aktivitāšu, kā arī TAS daudzuma palielināšanās un vienlaicīga VE samazināšanās, bet savukārt 18. mēn. – nozīmīga Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās, KAT aktivitātes un VE daudzuma samazināšanās. Katalāzes aktivitāte *Placebo* gr. pacientiem, salīdzinot ar pārējām grupām, bija tuvu statistiski ticamam zemākā. Glutathionperoksidāzes aktivitātes un TAS daudzuma palielināšanos 9. mēn. varētu izskaidrot ar adaptīvo atbildi uz OS, par ko liecināja vidēji ciešā pozitīva korelācija starp antioksidantiem un prooksidantiem: starp GPx un 4-HNE (3.37. attēls) un starp TAS un MDA (3.18. tabula). Pētījuma 9. un 18. mēn. bija pozitīvas korelatīvas saistības starp lipofilo AO VE un hidrofilajiem AO TAS.

Pētījumā pierādīts, ka atkarībā no Se daudzuma plazmā statistiski ticamas atšķirības ir 9. mēn. LOOH saturā ($p = 0,022$). Pacientiem, kuriem Se daudzums ir normas robežās, LOOH saturs ir mazāks. *Placebo* gr., atšķirībā no pārējām grupām, netika konstatētas nozīmīgas LPO metabolītu izmaiņas.

Salīdzinot dažādo preparātu ilgstošas lietošanas efektivitāti uz *red-oks* statusa modulēšanu, lielāku efektivitāti izrādīja GB, jo nozīmīgi samazinājās LOOH 9. mēn., kam sekoja gan MDA, gan 4-HNE samazināšanās 18. mēnesī. Jāņem vērā, ka pētījums bija veikts ar vecāka gada gājuma 2TCD pacientiem, kuriem ir stiprāk izteiktas diabēta izraisītās komplikācijas, domājams, tās neļāva sagaidīt ievērojami lielākas pozitīvas izmaiņas OS samazināšanā pēc dabisko ekstraktu lietošanas.

Tādējādi dabisko AO iekļaušana 2TCD ārstēšanā nepieciešama jau agrīnajās saslimšanas stadijās, vēl pirms sekundāro komplikāciju parādīšanās, un gadījumos, ja

pacientam konstatē kaut vai nelielu Se deficītu, kompleksajā terapijā nepieciešams iekļaut organisko Se.

IV pētījums

Oksidatīvā stresa rādītāju atšķirības Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar un bez 2TCD

Pētījumā noskaidrojām, kā mainās OS rādītāji Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD, un salīdzinājām ar 2TCD pacientiem un Černobiļas AES seku likvidētājiem bez 2TCD. Pēc pētījuma rezultātiem redzams, ka Se daudzums visās grupās bija zemāks par pieņemto normu, un kā GPx integrālajam komponentam Se būtu jāietekmē enzīma aktivitāte. Tomēr konstatētās korelatīvās saistības starp Se daudzumu un GPx bija vāji izteiktas. Lai gan Se daudzums JS grupā bija pazemināts, GPx aktivitāte saglabājas kontroles grupas līmenī. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD GPx aktivitāte bija pazemināta nedaudz mazāk (13%) nekā 2TCD pacientiem (18%), salīdzinot ar kontroles grupu. Līdz ar GPx salīdzinoši zemo aktivitāti pieļaujam, ka varētu pieaugt gan H₂O₂, gan LOOH koncentrācijas, kam sekotu LPO galaproduktu MDA un 4-HNE pieaugums.

Cu, Zn-SOD aktivitāte 2TCD pacientiem ir zemāka ne tikai salīdzinot ar kontroles grupu, bet arī ar JS un 2TCD + JS grupām (3.42. attēls). Iespējams, t. i. saistīts ar minētā enzīma inhibēšanu, kuru spēj izraisīt hiperglikēmija vai pārlicia H₂O₂ uzkrāšanās organismā. Konstatētais Cu, Zn-SOD aktivitātes nemainīgums abās grupās, kurās bija iesaistīti Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji, varētu būt saistīts ar palielināto enzīma gēnu ekspresiju, kuru varētu uzskatīt par adaptīvo atbildi uz OS. Zināms, ka Cu, Zn-SOD piemīt radioprotektīvas īpašības, un tādēļ tai ir būtiska loma radioadaptīvajās atbildes reakcijās. Enzīma aktivitātes paaugstināšanos eritrocītos var uzskatīt par adaptīvu reakciju, kura vērsta uz Hb un eritrocītu membrānas aizsardzību no oksidatīvās destruktijas, kuras ierosinātāji (un realizētāji) ir superoksīda radikāļi un singleta skābeklis [Radha *et al.*, 1997].

Izvērtējot LPO rādītājus, redzams (3.44. attēls), ka MDA daudzums būtiski pieaudzis Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD, bet 2TCD grupā konstatēta tendence MDA pieaugumam. 2TCD pacientu grupā konstatētā vājā negatīvā korelācija starp Cu, Zn-SOD un MDA (3.47. attēls) liecina par superoksīdanjonradikāļu iesaisti LPO procesā. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD 4-HNE daudzums paaugstināts mazāk (24%) nekā 2TCD pacientiem (37%), salīdzinot ar kontroles grupu. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD pastāvēja vāja pozitīva korelācija starp GPx un 4-HNE (3.49. attēls), acīmredzot, pateicoties augstai GPx aktivitātei, 4-HNE daudzums organismā nepieauga. Oksidatīvā stresa apstākļos parasti novērotais 4-HNE pieaugums liecina par *n*-6

tauskābju oksidācijas palielināšanos un nespēju pazeminātas GPx aktivitātes gadījumā kavēt endoperoksīdu sadalīšanos. Pazeminātā GPx aktivitāte saistīta gan ar Se deficītu organismā, tā substrāta – reducētā GSH – klātbūtni, gan ar hiperglikēmijas inhibējošo ietekmi uz GPx ekspresiju, kā arī ASF kopējo destruktīvo darbību uz tām enzimatiskajām sistēmām, kuras atbild par lipoperoksīdu utilizāciju. 4-hidroksinonenāla eliminācijas kavēšana ar GSH konjugātu starpniecību varētu būt saistīta ar proteīnu oksidācijas pieaugumu, kā arī traucējumiem GSH bioreģenerācijā, jo sevišķi, ņemot vērā to, ka 2TCD pacientiem ir pazemināta ATP veidošanās un GSH sintēze *de novo* ir energoatkarīgs process. Hiperglikēmija netieši var ietekmēt GSH krājumu izsīkšanu, jo aldoses reduktāze pārvērš intracelulāro glikozi līdz sorbitolam, izmantojot pentožu fosfātu metabolisma cikla kofaktoru NADP⁺, kurš savukārt nepieciešams GSH veidošanai ar GR palīdzību. Konstatētā JS un 2TCD + JS grupā vidēji ciešā korelācija starp TAS un 4-HNE līmeni (3.49. A attēls un 3.48. A attēls) liecina par kompensatoro mehānismu ieslēgšanos, t. i., uz 4-HNE palielināšanās fona, ja tas netiek izvadīts, ieslēdzas AO. Rezultāti liecina, ka lipīdu oksidatīvos bojājumus vienlaikus pavada AOS aizsardzības pieaugums.

Proteīnkarbonilu saturs būtiski paaugstinājās visās pētījumu grupās, sevišķi 2TCD pacientiem, kuri nebija pakļauti JS. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD PK daudzums ir augstāks nekā JS grupā, bet zemāks nekā 2TCD grupā. Lipīdu peroksidācijas metabolītu izraisītā proteīnu u. c. biomolekulu modifikācija ieņem centrālo vietu ar radikāļu darbību saistītiem dažādiem patoloģiskiem stāvokļiem. Tie inhibē proteīnu sintēzi, vairāku enzīmu aktivitāti, paaugstina asins recī, izraisa proteīnu oksidatīvo destruktiju. Tā MDA var reaģēt ar amīnu, aminoskābju un proteīnu aminogrupām un tādējādi piedalīties Šiffa bāzu un dihidropiridīnu veidošanā, bet 4-HNE – reaģēt ar proteīnu aminoskābju atlikumiem amino-, imidazola un tiola grupām, mainot to natīvo struktūru. Proteīnkarbonilu palielināšanās ataino AOS enzīmu darbības līdzsvara traucējumus, kas saistīti ar tādu enzīmu kā KAT un GPx nepietiekošu darbību, kam seko H₂O₂ uzkrāšanās. Ja ir zems H₂O₂ līmenis, proteīniem ir augsta jutība pret proteasomām, kas savukārt samazinās, ja ir liela H₂O₂ koncentrācija. Ar 4-HNE saistītie proteīni ir rezistenti pret to degradāciju proteasomās un darbojas kā nekonkurentie enzīmu inhibitori. Šāda nelīdzsvarotība starp proteīnu oksidatīvās modifikācijas intensitāti, to proteolīzi un sintēzi *de novo* kalpo par audu bojājumu marķieri.

Kopumā, salīdzinot pētījuma grupas, konstatēts, ka 2TCD pacientiem vairāk izteiktas izmaiņas AO un OS rādītājos nekā Černobiļas AES seku likvidētājiem **ar** 2TCD, turpretī Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem **bez** 2TCD – mazāk nekā 2TCD pacientiem un Černobiļas AES seku likvidētājiem ar 2TCD. Iespējams, tas saistīts ar apstākli, ka JS veicina adaptīvo atbildes reakciju, paaugstinot AO aizsardzību. Zināms, ka transkripcijas faktors Nrf2

regulē intracelulāro *red-oks* līdzsvaru un ir OS sensors. Nrf2 regulē intracelulāros antioksidantus, fāzes II detoksikācijas enzīmus un daudzus citus proteīnus, kuri detoksificē ksenobiotiķus un neitralizē ASF, tādējādi nodrošinot šūnas *red-oks* homeostāzi. Ja ir CD, Nrf2 aktivitāte – samazināta. Pētījumā ar pelēm, kurām izraisīts 2TCD, pierādīts, ka iepriekšējā pakļaušana mazas devas radiācijai (75 mGy) mazināja diabēta ierosināto nefropātiju, aktivēja Nrf2, samazināja dislipidēmiju un sekojoši – lipotoksicitātes ierosināto insulīnrezistenci, iekaisumu un OS [Xing et al., 2012; Shao et al., 2014].

RSU Bioķīmijas laboratorijā iepriekš veiktais pētījums [Skesters et al., 2010] pierādījis, ka, salīdzinot Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju antioksidantu / oksidantu statusu (pēc radiācijas sindroms) starp diviem laika periodiem 1998.–1999. g. (I periods) un 2005. gadu (II periods), uz pusi ir samazinājies LOOH ($H_{maks.}$) un LPO ātrums ($tg\alpha$), bet ne plazmas oksidējamība ($S_{oks.}$). Lai gan LOOH un LPO ātrums samazinājās, to vērtības palika augstākas par pieņemto normu. Selēna daudzums II periodā palielinājās, salīdzinot ar I periodu, no $46 \pm 7,8$ līdz $79,8 \pm 3,94$ $\mu g/L$, ko varētu izskaidrot ar dalībnieku uzlabotu uzturu – vairāk dārzeņu un augļu, vitamīnu un mikroelementu kompleksu lietošana. Glutationperoksidāzes aktivitāte asinīs I periodā bija zem normas, bet II periodā – normas robežās. Cinka un vara saturs vairākkārtīgi pārsniedza normas vērtības abos periodos. Tas liecina par šo metālu uzkrāšanos ķermeņa daļās un rezistenci izmaiņām, kas savukārt veicina iekaisuma procesus un dažādu patoloģiju attīstību. Ceruloplazmīns, kurš ir akūtās fāzes proteīns un regulē optimālu vara daudzumu audos nemainījās un palika virs pieņemtās normas. Tādējādi Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem oksidantu samazināšanos asinīs pavada adaptēšanās OS, palielinoties AO aktivitātei. Arī esošajā pētījumā JS grupā, lai gan AO enzīmu Cu, Zn-SOD un GPx aktivitāte atbilda normai, MDA un PK daudzums bija paaugstināts, kas liecina par OS un adaptācijas mehānismu ieslēgšanos. Ir zināms, ka MDA un 4-HNE ir klastogēnie faktori, kuri persistē daudzus gadus pēc pakļaušanas jonizējošam starojumam, un ir riska faktors vēlāku komplikāciju veidošanā ne tikai indivīdiem ar pēcradiācijas sindromu, bet arī ar CD. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem, kuriem bija attīstījies 2TCD, bija samazināta GPx aktivitāte, palielināts MDA un PK, kā arī 4-HNE daudzums, ko varētu pamatot ar hiperglikēmijas efektu. Savukārt hiperglikēmija palielina Mth ASF veidošanos, kas rezultējas NF-kB aktivēšanā, COX-2 mRNA ierosināšanā, COX-2 proteīnu veidošanā un PGE-2 sintēzē [Kiritoshi et al., 2003].

Pamatojoties uz pētījuma atradni un literatūras datiem, varam secināt, ka lipīdu un proteīnu oksidācijas metabolītiem MDA, 4-HNE un PK ir nozīmīga loma Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju multifunkcionālo saskarsmju attīstībā, to skaitā 2TCD attīstībā. Vēlams šādās situācijās lietot dabiskas vielas ar antiradikālu darbību un Se.

5. SECINĀJUMI

1. Oksidatīvā stresa rādītāju koriģēšana, lietojot IBF (400 mg/d.) kombinācijā ar lipofilo antioksidantu KoQ₁₀ (100 mg/d.) un hidrofilo antioksidantu Se (200 µg/d.), Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bija efektīvāka nekā kombinācijā ar vitamīnu E (350 mg/d.) un Se (200 µg/d.).
2. Oksidatīvā stresa rādītāju koriģēšana pacientiem ar kompensētu 2TCD bija efektīvāka, lietojot papildu standartterapijai (metformīns, insulīns) *Ginkgo biloba* lapu standartizēto sauso ekstraktu 80 mg, kas satur 19,2 mg *Ginkgo* flavonglikozīdus un 4,8 mg terpēnlaktonus (ginkgolīdi, bilobalīdi), pa vienai kapsulai trīs reizes dienā 18 mēnešu garumā, salīdzinot ar lietoto standartterapiju, zaļās tējas un kombinētā preparāta *Grinvitals Cereloba®Plus* lietošanu.
3. Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD ir adaptācija oksidatīvā stresa apstākļiem, un tāpēc ir mazāk izteiktas izmaiņas antioksidatīvās sistēmas un oksidatīvā stresa rādītājos nekā 2TCD pacientiem, kuri nebija eksponēti mazas devas jonizējošam starojumam, bet tās ir lielākas nekā Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD un kontroles grupai.

Promocijas darbā izvirzīto hipotēžu apstiprinājums

1. Kombinēta nesteroīda pretiekaisuma līdzekļa ibuprofēna lietošana ar lipofilo antioksidantu E vitamīnu un hidrofilo antioksidantu Se normalizēja oksidatīvā stresa rādītājus, tomēr korelatīvās saistības starp antioksidantiem un prooksidantiem liecināja par oksidatīvā stresa saglabāšanos Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā.
2. Kombinēta nesteroīda pretiekaisuma līdzekļa ibuprofēna lietošana ar lipofilo antioksidantu KoQ₁₀ un hidrofilo antioksidantu Se regulēja antioksidatīvās aizsardzības sistēmas antiradikālās un antiperoksidatīvās darbības enzīmus, palielināja neenzimātisko antioksidantu daudzumu un kavēja lipīdu peroksidācijas pieaugumu Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju organismā.
3. Salīdzinot dabiskas izcelsmes antioksidantu preparātu ilgstošas lietošanas efektivitāti 2TCD pacientiem, visefektīvāko darbību uz oksidatīvā stresa rādītājiem izrādīja 80 mg *Ginkgo biloba* lapu standartizētā sausā ekstrakta, kas satur 19,2 mg *Ginkgo* flavonglikozīdus un 4,8 mg terpēnlaktonus (ginkgolīdes, bilobalīde), lietošana pa vienai kapsulai trīs reizes dienā 18 mēnešu garumā, salīdzinot gan ar lietoto standartterapiju

(metformīns, insulīns), gan ar zaļās tējas lapu standartizētā ekstrakta un *Grinvitals Cereloba® plus* preparāta lietošanu

4. Kopumā, salīdzinot pētījuma grupas, tika konstatēts, ka 2TCD pacientiem vairāk izteiktas izmaiņas antioksidatīvos un oksidatīvā stresa rādītājos nekā Černobiļas AES seku likvidētājiem ar 2TCD, turpretī Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD – mazāk nekā 2TCD pacientiem un Černobiļas AES seku likvidētājiem ar 2TCD.

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1. Ibuprofēna kā monopreparāta lietošana ir efektīva pirmo trīs mēnešu laikā, ilgstošai lietošanai nepieciešams papildus lietot kādu (kādas) antioksidantu, tādējādi sekmējot lipīdu peroksidācijas produktu veidošanās samazinājumu un vienlaicīgi aktivizējot enzimatisko antioksidatīvo sistēmu.
2. Pamatojoties uz pētījuma atradni un literatūras datiem, var secināt, ka lipīdu un proteīnu oksidācijas metabolītiem – malondialdehīdam, 4-hidroksinonenālam un proteīnkarboniliem – ir nozīmīga loma Černobiļas AES avārijas seku likvidētāju multifunkcionālo saslimšanu attīstībā, to skaitā 2TCD attīstībā. To novēršanai nepieciešams lietot dabiskos uztura bagātinātājus ar antiradikāļu īpašībām un dabiskā selēna preparātus.
3. Dabisko antioksidantu iekļaušana 2TCD ārstēšanā nepieciešama jau agrīnajās saslimšanas stadijās, vēl pirms sekundāro komplikāciju parādīšanās, un konstatētais Se deficīts jākompensē, izmantojot dabiskā Se preparātus.

7. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Eglīte M. Darba medicīna. – 2. izd. – Rīga, Rīgas Stradiņa universitāte, 2012. – 500. – 505. lpp.
2. <http://www.vi.gov.lv/lv/vides-veseliba/starojumi/jonizejošais-starojums> (sk. 20.08.2014).
3. Vikipēdijas (brīva interneta enciklopēdija) mājas lapa, http://en.wikipedia.org/wiki/Gallega_officinalis (sk. 12.07.2014.).
4. Komisijas īstenošanas regula (ES) Nr. 427 / 2013 (2013. gada 8. maijs), ar ko atļauj lietot no *Saccharomyces cerevisiae* (NCYC R646) iegūtu selēnmetionīnu kā lopbarības piedevu visām dzīvnieku sugām un groza Regulu (EK) Nr. 1750 / 2006, (EK) Nr. 634 / 2007 un (EK) Nr. 900 / 2009 attiecībā uz maksimālo ar selēnu bagātināta rauga pievienošanas daudzumu 15.05.2013. Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis L 130 / 21
5. Reste J. Jonizējošās radiācijas ilgstošai iedarbībai pakļauto cilvēku novecošanas aspekti. – Promocijas darbs, 2013.-199 lpp.
6. Tīrzītis G. Skābekļa atvasinājumu un brīvo radikāļu bioķīmiskie aspekti bioloģijā : mācību materiāls / Gunārs Tīrzītis, Šķesters A. – Rīga : LU Akadēmiskais apgāds, 2007. – 105 lpp.
7. Abd-El-Fattah A. A., El-Sawalhi M. M., Rashed E. R., et al. Possible role of vitamin E, coenzyme Q10 and rutin in protection against cerebral ischemia / reperfusion injury in irradiated rats // International Journal of Radiation Biology, 2010; 86 (12): 1070–1078.
8. Abell L. L., Levy B. B., Brodie, B. B., et al. A Simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity // The Journal of Biological Chemistry, 1952; 195: 357–366.
9. Adachi M., Sakamoto H., Kawamura R., et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and oxidative stress in cancer cells // Histology and Histopathology, 2007; 22: 437–442.
10. Aebi H. Catalase in Vitro // Methods in enzymology, 1984; 105:121–126.
11. Akpolat M., Topçu-Tarladaçalışır Y., Dökmeci D., et al. Protective effects of Ibuprofen and L-Carnitine against whole body Gamma irradiation-induced duodenal mucosal injury // Balkan Medical Journal, 2011; 28: 80–85.
12. Aldini G., Gamberoni L., Orioli M., et al. Mass spectrometric characterization of covalent modification of human serum albumin by 4-hydroxy-trans-2-nonenal // Journal of Mass Spectrometry, 2006; 41: 1149–1161.
13. Alehagen U., Johansson P., Björnstedt M., et al. Cardiovascular mortality and N-terminal-proBNP reduced after combined selenium and coenzyme Q10 supplementation: A 5-year prospective randomized double-blind placebo-controlled trial among elderly Swedish citizens // International Journal of Cardiology, 2013; 1; 167(5): 1860–1866.
14. Alfthan G. A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test-tube fluorimetry // Analytical Chimica Acta, 1984; 165: 187–194.
15. Allen N. E., Appleby P. N., Roddam A. W., et al. Plasma selenium concentration and prostate cancer risk: results from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) // American Journal of Clinical Nutrition, 2008; 88: 1567–1575.
16. Anderson R. F., Fisher L. J., Hara Y., et al. Green tea catechins partially protect DNA from ()OH radical-induced strand breaks and base damage through fast chemical repair of DNA radicals // Carcinogenesis, 2001; 22: 1189–1193.
17. Arai K. Biochemical study on nonenzymatic glycosylation of human erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase // Hokkaido Igaku Zasshi, 1988; 63 (6): 925–937.
18. Aucamp J., Gaspar A., Hara Y., Apostolides Z. Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*Camellia sinensis*) // Anticancer Research, 1997; 17: 4381 – 4385.
19. Ayala A., Muñoz M. F. and Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal // Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014; Article ID 360438: 1–31.
20. Babu P. V., Sabitha K. E., Shyamaladevi C. S . Therapeutic effect of green tea extract on oxidative stress in aorta and heart of streptozotocin diabetic rats // Chemico-Biological Interactions, 2006; 162 (2): 114–120.
21. Bailey C. J., Day C. Metformin: its botanical background // Practical Diabetes International, 2004; 21 (3): 115–117.
22. Basu A., Betts N. M., Mulugeta A., et al. Green tea supplementation increases glutathione and plasma antioxidant capacity in adults with the metabolic syndrome // Nutrition Research, 2013; 33 (3): 180–187.

23. Benzie I. F., Szeto Y. T, Strain J. J., et al. Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans // *Nutrition and Cancer*, 1999; 34: 83–87.
24. Beutler E., Duron O. and Kelley B. M. Improved method for the determination of blood glutathione // *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1963; 61: 882–888.
25. Bhagavan H. N., Chopra R. K. Coenzyme Q10 :absorbtion, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics // *Free Radical Reserch*, 2006; 40: 445–453.
26. Blázovics A. Redox homeostasis, bioactive agents and transduction therapy // *Current Signal Transduction Therapy*, 2007; 2: 226–239.
27. Borek C. Antioxidants and radiation therapy // *Journal of Nutrition*, 2004; 134: 3207–3209.
28. Borek C., Ong A., Mason H., et al. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms // *Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A.*, 1986; 83: 1490–1494.
29. Bor-Jen L., Yi-Chia H., Shu-Ju Ch., Ping-Ting L. Coenzyme Q10 supplementation reduces oxidative stress and increase antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease // *Nutrition*, 2012 Mar.; 28 (3): 250–255.
30. Boveris A., Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen // *Biochememical Journal*, 1973; 134 (3): 707–716.
31. Brahmachari G. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey // *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*, 2011: 187–212.
32. Bridi R., Crossetti F. P., Steffen V. M. and Henriques A. T. The antioxidant activity of standardized extract of *Ginkgo biloba* (EGb 761) in rats // *Phytotherapy Research*, 2001; 15 (5): 449–451.
33. Brinkman M., Reulen R. C., Kellen E., et al. Are men with low selenium levels at increased risk of prostate cancer? // *European Journal of Cancer*, 2006; 42 (15): 2463–2471.
34. Brooks J. D., Metter E. J., Chan D. W., et al. Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development // *Journal of Urology*, 2001; 166: 2034–2038.
35. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // *Nature*, 2001; 414: 813–820.
36. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism // *Diabetes*, 2005; 54: 1615–1625.
37. Burk R. F., Norsworthy B. K., Hill K. E., et al. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2006; 15 (4): 804–810.
38. Burlakova B. B., Goloshchapov A. N., Gorbunova N. V., et al. Peculiarities of biological action of low irradiation doses and their probable relation to the health state of participants of Chernobyl accident liquidation // *Research Reactor Institute. Ed. T. Imanaka. Kyoto University, Japan*, 1998, p. 223–234.
39. Cadenas E., Boveris A., Ragan C. I. and Stoppani A. O. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria // *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 1977; 180: 248–257.
40. Catherwood M. A., Powell L. A., Anderson P., et al. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells // *Kidney International*, 2002, 61: 599–608.
41. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation // *Metabolism*, 2000; 49: 27–29.
42. Chakraborty S., Roy K. and Sengputu C. Exploring effects of different nonsteroidal antiinflammatory drugs on lipid peroxidation. Part II. 4-HNE profile // *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2007; 64 (3): 211–216.
43. Chandiran S., Vyas S., Sharma N., et al. Synthesis and evaluation of antioxidant-s-(+)-Ibuprofen hybrids as gastro sparing NSAIDs // *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013; 9 (7): 1006–1016.
44. Chen Z. H., Saito Y., Yoshida Y., et al. 4-Hydroxynonenal induces adaptive response and enhances PC12 cell tolerance primarily through induction of thioredoxin reductase 1 via activation of Nrf2 // *Jornal of Biological Chemistry*, 2005; 280: 41921–41927.
45. Chennasamudrama S. P., Kuduguntib S., Boreddy P. R., et al. Renoprotective effects of (+)-catechin in streptozotocin-induced diabetic rat model // *Nutrition Research*, 2012; 32 (5): 347–356.
46. Clostre F. *Ginkgo biloba* extracts (EGb 761). State of knowledge in the dawn of the year 2000 // *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 1999; 57 (1): 1S 8–88.

47. Coimbra S., Castro E., Rocha-Pereira P. The effect of green tea in oxidative stress // *Clinical Nutrition*, 2006; 25 (5): 790–796.
48. Crosby C. G., DuBois R. N. The cyclooxygenase-2 pathway as a target for treatment on prevention of cancer // *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 2003; 8 (1): 1–7.
49. D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., et al. Polyphenols, dietary sources and bioavailability // *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 2007; 43 (4): 348–361.
50. Dalle-Donne I., Giustarini D., Colombo R., et al., Protein carbonylation in human diseases // *TRENDS in Molecular Medicine*, 2003; 9 (4): 169–176.
51. De Vries G. H., Mamunes P., Miller C. D. Quantitative determination of C6:0–C18:3 serum nonesterified fatty acids by gas-liquid chromatography // *Analytical Biochemistry*, 1979; 70:156–166.
52. De Feudis F. V. and Drieu K. Ginkgo biloba extract (EGb 761) and CNS functions: basic studies and clinical applications // *Current Drug Targets*, 2000;1(1): 25–58.
53. Denkert C., Winzer K., Muller B., et al. Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for disease free survival and overall survival in patients with breast carcinoma // *Cancer (Phila.)* 2003; 97: 2978 – 287.
54. Dokmeci D. Ibuprofen and Alzheimer's disease // *Journal Folia Medica (Plovdiv)*, 2004; 46 (2): 5–10.
55. Eiichi A. and Takeshi N. Oxidative stress: A cause and therapeutic target of diabetic complications // *Journal of Diabetes Investigation*, 2010; 1 (3): 90–95.
56. Emerit I. Clastogenic factors as biomarkers of oxidative stress // *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants*, NATO ASI Series, 1998; 296: 375–384.
57. Emerit I. Clastogenic factors as biomarkers of oxidative stress after radiation exposure // *International Journal of Radiation Medicine*, 1999; 2 (2): 25–33.
58. Emerit I., Oganessian N., Sarkisian T., R., et al. Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl accident recovery workers: anticlastogenic effect of *Ginkgo biloba* extract // *Radiation Research*, 1995; 144 (2) :198–205.
59. Emerit I. Clastogenic factors as potential biomarkers of increases superoxide production // *Biomark Insights*, 2007; 2: 429–438.
60. Erba D., Riso P., Bordon A., et al., Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans // *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2005; 16 (3): 144–149.
61. Esterbauer H. and Cheesman K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal // *Methods Enzymology*, 1990; 186: 407–421.
62. Evans A. M. Comparative pharmacology of S(+)-ibuprofen and (RS)-ibuprofen // *Clinical Rheumatology*, 2001; 20(1): S 9–14.
63. Fazlul H. Molecular modelling analysis of the metabolism of Ibuprofen // *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2006; 1(5): 456–463.
64. Fleck C. M., Schollnberger H., Kottbauer M. M., et al. Modeling radioprotective mechanisms in the dose effect relation at low doses and low doserates of ionizing radiation // *Mathematical biosciences*, 1999; 155: 13–44.
65. Fonseca V. A., Pendergrass M., McDuffie R. H. Diabetes in clinical practice // Springer, 2010. – 81 P.
66. Forester S. C., Lambert J. D. Antioxidant effects of green tea // *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011; 55 (6): 844–854.
67. Forester S. C. and Lambert J. D. Antioxidant effects of green tea // *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011 June ; 55 (6): 844–854.
68. Fuller B., Smith D., Howerton A., et al., Anti-inflammatory effects of CoQ₁₀ and colorless carotenoids // *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2006; 5 (1): 30–38.
69. Gaetani G., Canepa L., Ferraris A. and Kirkman H. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes // *Blood*, 1989; 73(1): 334–339.
70. Gawlik M. and Czajka A. The effect of green, black and white tea on the level of α and γ tocopherols in free radical-induced oxidative damage of human red blood cells // *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 2007; 64 (2): 159–164.
71. Giacco F. and Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications // *Circulation Research*, 2010; 107: 1058–1070.

72. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular // complications // *Diabetes Care*, 1996; 19: 257–67.
73. Go Y. M., Halvey P. J., Hansen J. M., et al. Reactive aldehyde modification of thioredoxin-1 activates early steps of inflammation and cell adhesion // *American Journal of Pathology*, 2007; 171: 1670–1681.
74. Goodman G. E., Schaffer S., Bankson D. D., et al. Predictors of serum selenium in cigarette smokers and the lack of association with lung and prostate cancer risk // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2001; 10: 1069–1076.
75. Grankvist K., Marklund S. L., and Taljedal I. B. Cu, Zn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse // *Biochemical Journal*, 1981; 199: 393–398.
76. Grant G. H. Amino acids and proteins // *Fundamental of Clinical Chemistry* / Ed. by Tietz N.W., – 3rd ed.– Philadelphia: W.B Saunders, 1987. – Pp. 328–329.
77. Grinberg L. N., Newmark H., Kitrossky N., et al. Protective effects of tea polyphenols against oxidative damage to red blood cells // *Biochemical Pharmacology*, 1997; 54: 973– 978.
78. Grune T., Davies K. J. The proteasomal system and HNE-modified proteins // *Molecular Aspects of Medicine*, 2003; 24: 195–204.
79. Guan J., Stewart J., Ware, J. H., et al. Effects of dietary supplements on the space radiation-induced reduction in Total antioxidant status in CBA mice // *Radiation Research*, 2006; 165: 373–378.
80. Guo Q., Zhao B., Li M., et al. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes // *Biochimica et Biophysica Acta*, 1996; 1304: 210– 222.
81. Haendeler J., Zeiher, A. M. and Dimmler S. Vitamin C and vitamin E prevent lipopolysaccharide-induced apoptosis in human endothelial cells by modulating Bcl-2 and Bax // *European Journal of Pharmacology*, 1996; 17: 407–411.
82. Hakim I. A, Harris R. B., Brown S. et. al. Effect of increased tea consumption on oxidative DNA damage among smokers: A randomized controlled study // *Journal of Nutrition*, 2003; 133: 3303–3309 S.
83. Halliwell B. and Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine.-Third ed.- Oxford University press, 2001; 936 P.
84. Harris R. E., Beebe-Donk J., Doss H., Burr Doss D. Aspirin, ibuprofen, and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention: a critical review of non-selective COX-2 blockade (review) // *Oncology Reports*, 2005;13(4): 559–583.
85. Hedge M., Stephan Lortz S., Drinkgern J. and Lenzen S. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin producing cells // *Diabetes*, 1997; 46(11): 1733–1742.
86. Helzlsouer K. J., Huang H. Y., Alberg A. J., et al. Association between alpha-tocopherol, gamma-tocopherol, selenium and subsequent prostate cancer // *Journal of the National Cancer Institute*, 2000; 92: 2018–2023.
87. Henning S. M., Niu Y. T., Lee N. H., et al. Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement // *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004; 80: 1558–1564.
88. Hertz N., Lister R. E. Improved survival in patients with end-stage cancer treated with coenzyme Q(10) and other antioxidants: a pilot study // *Journal of International Medical Research*, 2009; 37(6): 1961–1971.
89. Hininger-Favier I., Benaraba R., Coves S., et al. Green Tea Extract Decreases Oxidative Stress and Improves Insulin Sensitivity in an Animal Model of Insulin Resistance, the Fructose-Fed Rat // *Journal of the American College of Nutrition*, 2009; 28(4): 355–361.
90. Hoenjet K. M., Dagnelie P. C., Delaere K. P., et al. Effect of a nutritional supplement containing vitamin E, selenium, vitamin C and coenzyme Q10 on serum PSA in patients with hormonally untreated carcinoma of the prostate: a randomised placebo-controlled study // *European Urology*, 2005; 47 (4): 433–439.
91. Hoff H. F., O'Neil J. Structural and functional changes in LDL after modification with both 4-hydroxynonenal and malondialdehyde // *The Journal of Lipid Research*, 1993; 34: 1209–1217.
92. Holman R. R, Paul S. K, Bethel M. A., et al. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes // *The New England Journal of Medicine*, 2008; 359: 1577–1589.

93. <http://www.vi.gov.lv/lv/vides-veseliba/starojumi/jonizejosais-starojums>
94. Huang S. Y., Jeng C., Kao S. C., et al. Improved haemorrhological properties by *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) in type 2 diabetes mellitus complicated with retinopathy // Clinical Nutrition, 2004; 23 (4): 615–621.
95. Hwang J. T., Kim Y. M., Surh Y. J., et al. Selenium regulates cyclooxygenase-2 and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways by activating AMP-activated protein kinase in colon cancer cells // Cancer Research, 2006; 66 (20): 10057–10063.
96. Inoguchi T., Li P., Umeda F., et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells // Diabetes, 2000; 49: 1939–1945.
97. Ip C., Lis D. J. Enrichment of selenium in allium vegetables for cancer prevention // Carcinogen, 1994; 15 (9): 1881–1885.
98. Jacobs N. J., Van Demark P. J. The purification and properties of the α -glycerophosphate-oxidizing enzyme of streptococcus faecalis 10C1 // Archives of Biochemistry and Biophysics, 1960; 88: 250–255.
99. Jain S. K. and Mc Vie R. Effect of glycemic control race (white vs. black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients // Metabolism, 1994; 43: 306–309.
100. Janero D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury // Free Radical Biology and Medicine, 1990; 9 (6): 515–540.
101. Jozanov-Stankov O., Demajo M., Djusic I., et al. Selenium intake as modulator of responsiveness to oxidative stress // Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology, 1998; 17 (3-4): 251–257.
102. Jung T., Catalgol B., Grune T. The proteasomal system // Molecular Aspects of Medicine, 2009; 30: 191–296.
103. Kaneto H., Fujii J., Suzuki K., et al. DNA cleavage induced by glycation of Cu, Zn-superoxide dismutase // Biochemical Journal, 1994; 304: 219–225.
104. Kanwar J., Taskeen M., Mohammad I., et al. Recent advances on tea polyphenols // Frontiers in Bioscience (Elite Ed), 2012; 4: 111–131
105. Kashima M. Effects of catechins on superoxide and hydroxyl radical // Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo), 1999; 47:279–283.
106. Kelly M. R., Geigerman C. M., Loo G. Epigallocatechin gallate protects U937 cells against nitric oxide-induced cell cycle arrest and apoptosis // Search Results Journal of Cellular Biochemistry, 2001; 81: 647–658.
107. Kennedy A. R., Ware J. H., Guan J., et al. Selenomethionine protects against adverse biological effects induced by space radiation // Free Radical Biology & Medicine, 2006; 36: 259–266.
108. Kennedy T. P., Rao N. V., Noah W., et al. Ibuprofen prevents oxidant lung injury and *in vitro* lipid peroxidation by chelating iron // Journal of Clinical Investigation, 1990; 8:1565–1573.
109. Kiritoshi S., Nishikawa T., Sonoda K., et al. Reactive oxygen species from mitochondria induce cyclooxygenase-2 gene expression in human mesangial cells: potential role in diabetic nephropathy // Diabetes, 2003; 52 (10): 2570–2577.
110. Kirschenbaum A., Liu X., Yao S., Levine A. C. The role of cyclooxygenase-2 in prostate cancer // Urology, 2001; 58: 127–131.
111. Khor L. Y., Bae K., Pollack A. et al., COX-2 expression predicts prostate-cancer outcome: analysis of data from the RTOG 92-02 trial // The Lancet Oncology, 2007, 8 (10): 912–920.
112. Kleinjen J., Knipschild P. *Ginkgo biloba* - drug profile // Lancet, 1992; b340: 1136–1138.
113. Kondal A. and Garg S. K. Influence of acidic beverage (Coca-cola) on pharmacokinetics of ibuprofen in healthy rabbits // Indian Journal of Experimental Biology, 2003; 41(11): 1322–1324.
114. Konopacka M., Rzeszowska-Wolny J. Antioxidant vitamins C, E and beta-carotene reduce DNA damage before as well as after gamma-ray irradiation of human lymphocytes in vitro // Mutation research, 2001; 491 (1-2): 1–7.
115. Konstan M. H., Byard P. J., Hoppel C. I., Davis P. B. Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis // The New England Journal of Medicine, 1995, 332 (13): 848–854.

116. Koryagin A. S., Krylova E. V., Luk'yanova L. D. Effect of ubiquinone-10 on the blood system in rats exposed to radiation // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2002; 133 (6): 562–564.
117. Kubisch H. M., Wang J., Luche R., et al. Transgenic copper / zinc superoxide dismutase modulates susceptibility to type I diabetes // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A.*, 1994; 91: 9956–9959.
118. Kudolo G. B., Wang W., Javors M., Blodgett J. The effect of the ingestion of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) on the pharmacokinetics of metformin in non-diabetic and type 2 diabetic subjects– a double blind placebo-controlled, crossover study // *Clinical Nutrition*, 2006;25 (4): 606–616.
119. Kudolo G. B., Delaney D. and Blodgett J. Short-term oral ingestion of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) reduces malondialdehyde levels in washed platelets of type 2 diabetic subjects // *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2005; 68: 29–38.
120. Kumaran S.V., Arulmathi K., Srividhya R., et al. Repletion of antioxidant status by EGCG and retardation of oxidative damage induced macromolecular anomalies in aged rats // *Experimental Gerontology*, 2008; 43 (3): 176–183.
121. Kumerova A. O., Lece A. G., Skesters A. P., et al. Antioxidant defense and trace element imbalance in patients with postradiation syndrome: first report on phase I studies // *Biological Trace Element Research*, 2000; 77 (1): 1–12.
122. Kwak S. H., Park K. S., Lee K. U., Lee H. K. Mitochondrial metabolism and diabetes // *Journal of Diabetes Investigation*, 2010; 1 (5): 161–169.
123. Lambat Z., Conrad N., Anoopkumar-Dukie S., et al. An investigation into the neuroprotective properties of ibuprofen // *Metabolic Brain Disease*, 2000; 15 (4): 249–256.
124. Lambert J. D., Elias R. J. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention // *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2010; 501(1): 65–72.
125. Lands L. C., Stanojevic S. Oral non-steroidal anti-inflammatory drug therapy for cystic fibrosis // *Cochrane Database Syst.Rev.* 2007; (4): CD 001505.
126. Lapenna D., de Gioia S., Ciofani G., et al. Antioxidant properties of omeprazole // *FEBS Letters*, 1996; 382: 189–192.
127. Leenen R., Roodenburg A. J, Tijburg L. B., et al. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans // *European Journal of Clinical Nutrition*, 2000; 54 (1): 87–92.
128. Lenaz G., Fato R., Castelluccio C., et al. Coenzyme Q saturation kinetics of mitochondrial enzymes: Theory, experimental aspects and biomedical implications. K. Folkers, T. Yamagami, and G. P. Littarru (eds) *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q*. Elsevier, Amsterdam; 1991; 6:11–18.
129. Lippman S. M., Klein E. A., Goodman P. J., et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT) // *The Journal of the American Medical Association*, 2009; 301(1): 39–51.
130. Lokman A., Elif K., Abdulgani T., Guleray A. Protective effects of selenium against sister chromatid exchange induced by AFG 1 in human lymphocytes in vitro // *Human & Experimental Toxicology*, 2011; 30 (6): 515–519.
131. Lotito S. B., Fraga C. G. Catechins delay lipid oxidation and alpha- tocopherol and beta-carotene depletion following ascorbate depletion in human plasma // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 2000; 225: 32–38.
132. Lu S. C., Bao Y., Huang Z. Z., et al. Regulation of γ - Glutamylcysteine synthetase subunit gene expression in retinal Müller cells by oxidative stress // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 1999; 40: 1776–1782.
133. Luty-Frackiewicz A. The role of selenium in cancer and viral infection prevention // *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 2005; 18 (4): 305–11.
134. Marechal D., Piette J. and Pincemail J. Patents: Process for the detection of oxidative stress and kit for its implementation WO 2003016527 A2, Publicēšanas datums 27.02.2003.
135. Martinucci M., Curradi G., Fasulo A., et al. Incidence of childhood type 1 *diabetes mellitus* in Gomel, Belarus // *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 2002; 15 (1): 53–57.

136. Miller N. J., Rice-Evans C., Davies M. J., et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates // *Clinical Science*, 1993; 84: 407–412.
137. Milella M., Gelibter A., Cosimo S. D., et al. Pilot study of celecoxib and infusional 5-fluorouracil as second-line treatment for advanced pancreatic carcinoma // *Cancer*, 2004;101: 133– 138.
138. Mitjavila M. and Moreno J. J. The effects of polyphenols on oxidative stress and the arachidonic acid cascade. Implications for the prevention of high prevalence diseases // *Biochemical Pharmacology*, 2012; 84 (9): 1113–1122.
139. Moore N., Ganse E., Le Parc J. M., et al. The PAIN study: Paracetamol, Aspirin and Ibuprofen New tolerability study. A large scale, randomized clinical trial comparing the tolerability of aspirin, ibuprofen and paracetamol for short-term analgesia // *Clinical Drug Investigation*, 1999; 18 (2): 89–98.
140. Moskaug J., Carlsen H., Myhrstad N. and Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation // *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005; 81 (1): 277S–283S.
141. Münch G., Thome J., Foley, P., et al. Advanced glycation endproducts in ageing and Alzheimer's disease // *Brain Research Reviews*, 1997; 23 (1–2): 134–143.
142. Muraki I., Imamura F., Manson J. E., et al. Fruit consumption and risk of type 2 diabetes: results from three prospective longitudinal cohort studies // *BMJ*, 2013 Aug.; 347: f5001.
143. Nakayamaa M., Inoguchia T., Sontaa T., et al. Increased expression of NAD(P)H oxidase in islets of animal models of Type 2 diabetes and its improvement by an AT1 receptor antagonist // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005; 332 (4): 927–933.
144. Nanjo F., Mori M., Goto K., Hara Y. Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1999; 63:1621– 1623.
145. Nathan D. M., Cleary P. A., Backlund J. Y., et al. Intensive diabetestreatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes // *The New England Journal of Medicine*, 2005; 353: 2643–2653.
146. National institutes of Health consensus development conference statement: Triglyceride, high density lipoprotein and coronary heart disease. Washington D. C. Feb. 26–28, 1992.
147. Negre-Salvayre A., Aude N., Ayala V., et.al. Pathological aspects of lipid peroxidation // *Free Radical Research*, 2010; 44: 1125–1171.
148. Nelson D. L. and Cox M. M. *Lehninger principals of Biochemistry* – 3rd ed. – New York: Worth Publishers: 2000.
149. Nomura A. M., Lee J., Stemmermann G., Combs G. F. Serum selenium and subsequent risk of prostate cancer // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000; 9: 883–887.
150. Nuth M. and Kennedy A. R. Mitigating effects of L-selenomethionine on low-dose iron ion radiation-induced changes in gene expression associated with cellular stress // *Oncology letters*, 2013; 6: 35–42.
151. Okada K., Wangpoengtrakul C., Osawa T., et al. 4-Hydroxy-2-nonenal-mediated impairment of intracellular proteolysis during oxidative stress. Identification of proteasomes as target molecules // *Jornal of Biological Chemistry*, 1999; 274: 23787–23793.
152. Paganga G., Al-Hashim H., Khodr H., et al. Mechanisms of antioxidants activities of quercitin and catechin // *Redox Report*, 1996; 2 (6): 359–364.
153. Paglia D. E., Valentine W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1967; 70: 158.
154. Pannala A. S., Rice-Evans C. A, Halliwell B., Singh S. Inhibition of peroxynitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997; 232: 164–168.
155. Patrick L. Selenium Biochemistry and Cancer:A Review of the Literature // *Alternative Medicine Review*, 2004; 9(3): 239–258.
156. Peyroux J., Sternberg M. Advanced glycation endproducts (AGEs):pharmacological inhibition in diabetes // *Pathologie Biologie*, 2006; 54: 405–419.
157. Pierce C. A. and Voss B. Efficacy and safety of ibuprofen and acetaminophen in children and adults: a meta-analysis and qualitative review // *Annals of Pharmacotherapy*, 2010; 44 (3): 489–506.

158. Pinnen F., Sozio P., Cacciatore I., Cornacchia C., et al. Ibuprofen and glutathione conjugate as a potential therapeutic agent for treating Alzheimer's disease // *Archiv der Pharmazie*, 2011; 344 (3): 139–48.
159. Poli G., Schaur R. J., Siems W.G., et al. 4-Hydroxynonenal: A membrane Lipid Oxidation Product of Medicinal Interest // *Medicinal Research Reviews*, 2008; 28 (4): 569–631.
160. Quiles J. L., Farquharson A. J., Ramírez-Tortosa M. C., et al. Coenzyme Q differentially modulates phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression and free radicals production in malignant and non-malignant prostate cells // *Biofactors*, 2003; 18 (1–4): 265–270.
161. Radha M. D. Radioprotection by Superoxide Dismutase // *Radioprotectors: Chemical, Biological and Clinical perspectives* / Ed. by Bump E.A., Kampal M. – 1st ed. – CRC Press, 1997. – p.127.
162. Rainsford Kim D. Ibuprofen: A Critical bibliographic review CRC press, Sep. 2, 2003 – Medical – p. 178–179.
163. Ratnam D. V., Ankola D. D., Bhardwaj V., et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective // *Journal of Controlled Release*, 2006; 113: 189–207.
164. Rayman M. The importance of selenium to human health // *The Lancet*, 2000; 356: 233–41.
165. Reagan L. P., Magarinos A. M., Yee D. K., et al. Oxidative stress and HNE conjugation of GLUT3 are increased in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress // *Brain Reserch*, 2000; 862: 292–300.
166. Reid M. E., Duffield-Lillico A. J., Slate E., Natarajan N., et al. The nutritional prevention of cancer: 400 mcg per day selenium treatment // *Nutrition and Cancer*, 2008; 60 (2): 155–163.
167. Reznick A. Z., Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay // *Methods in Enzymology*, 1994; 233: 357–363.
168. Riahi Y., Cohen G., Shamni O. and Sasson S. Signaling and cytotoxic functions of 4-hydroxyalkenals // *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 2010; 299 (6): E879–86.
169. Rifai N., Warnick G. R., McNamara J. R., et al. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol in serum: a status report // *Clinical Chemistry*, 1992; 38:150–160.
170. Rimbach G., Gohil K., Matsugo S., et al. Induction of glutathione synthesis in human keratinocytes by *Ginkgo biloba* extract (EGb761) // *BioFactors*, 2001; 15 (1): 39–52.
171. Rittner H. L., Hafner V., Klimiuk P. A., et al. Aldose reductase functions as a detoxification system for lipid peroxidation products in vasculitis // *Journal of Clinical Investigation*, 1999; 103 (7): 1007–1013.
172. Robertson R. P. chronic oxidative stress as central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes // *The Journal of Biological Chemistry*, 2004; 279 (41): 42351–42354.
173. Rodemann H. P., Hehr T., Bamberg, M. Relevance of the radioprotective effect of sodium selenite // *Medizinische Klinik*, 1999; 94 (3): 39–41.
174. Ryan-Harshman M., Aldoori W. The relevance of selenium to immunity, cancer, and infectious / inflammatory diseases // *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*, 2005; 66 (2): 98–102.
175. Safarinejad M. R., Shafiei N., Safarinejad S. Effects of EPA, gamma linolenic acid or coenzyme Q10 on serum prostate-specific antigen levels a randomized, double blind trial // *British Journal of Nutrition*, 2012; 30: 1–8.
176. Sang S., Tian S., Wang H., et al. Chemical studies of the antioxidant mechanism of tea catechins: radical reaction products of epicatechin with peroxy radicals // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2003; 11: 3371– 3378.
177. Sasaki K., Hatta S., Wada K., et al. Effects of extract of *Ginkgo biloba* leaves and its constituents on carcinogen-metabolizing enzyme activities and glutathione levels in mouse liver // *Life Science*, 2002; 70 (14): 1657–1667.
178. Scalbert A., Johnson I. and Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond // *American Journal of Clinical Nutrition*, 2005; 81 (1): 215S–217 S.
179. Schewe T., Steffen Y. and Sies H. How do dietary flavanols improve vascular function? A position paper // *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2008; 476 (2): 102–106.
180. Schrauzer G. N., Selenium yeast: Composition, quality, analysis, and safety // *Pure and Applied Chemistry*, 2006; 78 (1): 105–109.

181. Shankar P., Kumar V. and Rao N. Evaluation of antidiabetic activity of *Ginkgo biloba* in streptozotocin induced diabetic rats // Iranian journal of pharmacology & therapeutics, 2005; 4:16–19.
182. Shao M., Lu X, Cong W., et al. Multiple low-dose radiation prevents type 2 diabetes-induced renal damage through attenuation of dyslipidemia and insulin resistance and subsequent renal inflammation and oxidative stress. // PLoS One, 2014; 9 (3): e92574.
183. Sigounas G., Anagnostu, A. and Steiner M. (1997) D α -tocopherol induces apoptosis in erythroleukemia, prostate and breast cancer cells // Nutrition and Cancer, 1997; 28: 30–35.
184. Skesters A., Zvagule T., Silova A., et al. Biochemical observations relating to oxidant stress injury in Chernobyl clean-up workers (“Liquidators”) from Latvia // Inflammopharmacology, 2010 Feb.;18 (1): 17–23.
185. Skrzydlewska E., Ostrowska J., Farbiszewski R., et al. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain // Phytomedicine, 2002; 9 (3): 232–238.
186. Southey E. R., Soares-Weiser K., Kleijnen J. Systematic review and meta-analysis of the clinical safety and tolerability of ibuprofen compared with paracetamol in paediatric pain and fever // Current Medical Research and Opinion, 2009; 25 (9): 2207–2222.
187. Stadtman E. R. Cyclic oxidation and reduction of methionine residues of proteins in antioxidant defense and cellular regulation // Archives of Biochemistry and Biophysics, 2004; 423 (1): 2–5.
188. Sundaresan S. and Subramanian P. Garlic modulates lipid peroxidation and antioxidant status during N-Nitrosodiethylamine-induced hepatic tumorigenesis // Plant Foods for Human Nutrition, 2003; 58 (3): 1–8.
189. Sung H., Nah J., Chun S., et al. In vivo antioxidant effect of green tea // European Journal of Clinical Nutrition, 2000; 54: 527–529.
190. Sutherland B., Rahman R., Appleton I. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration // Journal of Nutritional Biochemistry, 2006; 17: 291–306.
191. Szalecckzy E., Prechl J., Fehér J. and Somogyi A. Alterations in enzymatic antioxidant defence in *diabetes mellitus* – a rational approach // Postgraduate Medical Journal, 1999; 75: 13–17.
192. Szweda L. I., Uchida K., Tsai L. and Stadtman E. R. Inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. Selective modification of an active-site lysine // The Journal of Biological Chemistry, 1993; 268: 3342–3347
193. Tatsuhito T., Norihiro U., Tavahide M. Chemiluminescence of whole blood // Clinical Immunology and Immunopathology, 1983; 26: 66–75.
194. Taylor A. J, Ye J. M. and Schmitz-Peiffer C. Inhibition of glycogen synthesis by increased lipid availability is associated with subcellular redistribution of glycogen synthase // Journal of Endocrinology, 2006; 188: 11–23.
195. The Diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // The New England Journal of Medicine, 1993; 329: 977–986.
196. Thompson J. N., Erdody P., Maxwell W. B. Simultaneous fluorimetric determinations of vitamins A and E in human serum and plasma. Biochemical Medicine, 1973; 8: 403–414.
197. Tiedge M., Lortz S., Munday R. and Lenzen S. Complementary action of antioxidant enzymes in the protection of bioengineered insulin-producing RINm5F cells against the toxicity of reactive oxygen species // Diabetes, 1998; 47 (10): 1578–1585.
198. Todo M., Horinaka M., Tomosugi M., et al. Ibuprofen enhances TRAIL-induced apoptosis through DR5 upregulation // Oncology Reports, 2013; 30 (5): 2379–84.
199. Toyokuni S., Yamada S., Kashima M., et al. Serum 4-hydroxy-2-nonenal-modified albumin is elevated in patients with type 2 *diabetes mellitus* // Antioxidants & Redox Signaling, 2000; 2: 681–685.
200. Traverso N., Menini S., Odetti P., et al. Diabetes impairs the enzymatic disposal of 4-hydroxynonenal in rat liver // Free Radical Biology and Medicine, 2002; 32: 350–359.
201. Tsai C. F., Hsu Y. W., Ting H. C., et al. The in vivo antioxidant and antifibrotic properties of green tea (*Camellia sinensis*, Theaceae) // Food Chemistry, 2013; 136 (3–4): 1337–44.
202. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols // Nutrients, 2010; 2: 1231–1246.

203. UK Prospective diabetes study (UKPDS) group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) // *Lancet*, 1998; 352: 837–853.
204. Valko M., Leibfritz D., Moncola J., et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007; 39: 44–84.
205. Van Den Brandt, Zeegers M. P., Bode P., Goldbohm R. A. Toenail selenium levels and the subsequent risk of prostate cancer: a prospective cohort study // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2003; 12: 866–871.
206. Van Kampen E. J. and Zijlstra W. G. Standardization of hemoglobinometry II. The hemiglobincyanide method // *Clinica Chimica Acta*, 1961; 6: 538–544.
207. Voulgaridou G. P., Anastopoulos I., Franco R., et al. DNA damage induced by endogenous aldehydes: current state of knowledge // *Mutation Research*, 2011; 711 (1–2): 13–27.
208. Wedick N. M., Pan A., Cassidy A. et al., Dietary flavonoid intakes and risk of type 2 diabetes in US men and women // *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2012; 95: 925–933.
209. Wei Z. and Lau B. H. S. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant activity in vascular endothelial cells // *Nutritional Research*, 1998; 18: 61–70.
210. Welt K., Weiss J., Martin R., et al. *Ginkgo biloba* extract protects rat kidney from diabetic and hypoxic damage // *Phytomedicine*, 2007; 14 (2–3): 196–203.
211. Weng C., Chen M., Yeh C., et al. Hepatoprotection of quercetin against oxidative stress by induction of metallothionein expression through activating MAPK and PI3K pathways and enhancing Nrf2 DNA-binding activity // *New Biotechnology*, 2011 Oct.; 28 (6): 767–777.
212. Williamson J. R., Chang K., Frangos M., et al. Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications // *Diabetes*, 1993; 42: 801–813.
213. Woolliams J. A., Wiener G., Anderson P. H., McMurray C. H. Variation in the activities of glutathione-peroxidase and superoxide-dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep // *Research in veterinary science*, 1983; 34: 253–256.
214. Xing X., Zhang C., Shao M., et al. Low-dose radiation activates akt and Nrf2 in the kidney of diabetic mice: a potential mechanism to prevent diabetic nephropathy // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012 (2012), Article ID 291087: 12.
215. Zhao B., Guo Q., Xin W. Free radical scavenging by green tea polyphenols // *Methods in Enzymology*, 2001; 335: 217–31.
216. Zu K., Ip C. Synergy between selenium and vitamin E in apoptosis induction is associated with activation of distinctive initiator caspases in human prostate cancer cells // *Cancer research*, 2003; 63: 6988–6995.
217. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты // *Вестник РАМН*, 1998; 7: 43–51.
218. Научная библиотека диссертаций и авторефератов <http://www.dissercat.com/content/radiatsionno-khimicheskie-prevrashcheniya-antioksidantov-fenolnoi-prirody-i-ikh-kompleksov-s#ixzz3S7xHrvOd>
219. Семенова Г. Н. Хемилюминисценция при пероксидазной реакции окисления люминола перекисью водорода в различных средах // *Лабораторное дело*, 1991; 11: 33–38.
220. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопросы медицинской химии*, 1987; 1: 118–122.
221. Горбачева Е. В. Распространенность сахарного диабета и диабетической ретинопатии среди участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, проживающих в Харьковской области // *Международный эндокринологический журнал*, 2011; 1 (33).

8. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

1. Skesters A., Silova A. A., Spadiene A. G., Savickiene N. Z., Rusakova N. J., Larmane L. T., Moisejevs G. O. Redox status blood of patients with new-found type-2-*diabetes mellitus* before and after duration of administration of natural antioxidants. // *Prenosology and Healthy Lifestyle*, 2013; 1 (12): 76–80.
2. Spadiene A., Savickiene N., Ivanauskas L., Jakstas V., Skesters A., Silova A., Rodovicius H. Antioxidant effects of *camellia sinensis* extract in patients with type 2 diabetes // In press: *Journal of Food and Drug Analysis*.
3. Lašaitė L., Spadienė A., Savickienė N., Rodovičius H., Skesters A., Silova A. The effect of ginkgo biloba and *camellia sinensis* Extracts on psychological state and glycated haemoglobin level in patients with type 2 *diabetes mellitus* // In Press: *Journal Diabetes Research and Clinical Practice*.
4. Spadiene A., Savickiene N., Jurgevičienė N., Zalinkevičius R., Norkus A., Ostrauskas R., Skesters A., Silova A., Rodovicius H., Francaite-Daugeliene M. Effect of ginkgo extract on eye microcirculation in patients with diabetes // *Central European Journal of Medicine*, December 2013; 8 (6): 736–741.
5. Kalnina I., Kirilova E., Zvagule T., Kurjane N., Skesters A., Silova A., Gabruseva N., Gorbenko G., Kirilov G., Gonta S. Radiation-modified albumin in type 2 diabetic patients // *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 2013; 3 (1): 3–7.
6. Kalnina I., Kirilova E., Zvagule T., Kurjane N., Skesters A., Silova A., Gabruseva N., Gorbenko G., Kirilov G., Gonta S. Pimane E. Characteristics of albumin binding sites in patients and chernobyl clean-up workers with type 2 *diabetes mellitus* // *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 2013; 3 (3): 185–190.
7. Kalnina I., Zvagule T., Kirilova E., Kurjane N., Skesters A., Silova A., Gabruseva N. Dynamics of lymphocyte membrane in Chernobyl clean-up workers with type 2 *diabetes mellitus* // *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, 2012; 2 (4): 357–363.
8. Spadiene A., Savickiene N., Skesters A., Silova A., Rodovicius H. The effects of *Ginkgo Biloba* L. and *Camelia sinensis* L. extracts on oxidative stress in patients with type 2 diabetes // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2012; 6 (44): 3080–3085.
9. Skesters A., Zvagule T., Silova A., Rusakova N., Larmane L., Reste J., Eglite M., Rainsford K. D., Callingham B. A., Bake M. A., Lece A. Biochemical observations relating to oxidant stress injury in Chernobyl clean-up workers (“Liquidators”) from Latvia // *Inflammopharmacology*, 2010 Feb.; 18(1): 17–23. (iekļauts PubMed datu bāzē).
10. Skesters A., Zvagule T., Silova A., Larmane L., Rusakova N., Kurjane N., Kirilov A., Kalnina I., Kirilov G., Gabruseva N. Antioxidant therapy and its stability on Chernobyl clean-up workers // *International Journal of Low Radiation*, 2010; 7 (5): 409–421.
11. Skesters A., Zvagule T., Larmane L., Rainsford K., Silova A., Rusakova N. and Mustafins P. Effects of selenium alone and with antioksidants and Ibuprofen mixture in Chernobyl catastrophe clean-up workers at risk of developing cancer // *Cell Biology and Toxicology*, 2008; 24(1): 31.
12. Skesters A., Rozentale B., Voicehovska J., Zvagule T., Rainsford K., Silova A., Rusakova N., Petuhovs V., Ivanchenko L. and Larmane L. Fluorescence method for Selenium determination in the blood plasma of Bronchial asthma, Hepatitis C virus, HCV / HIV co-infection diseases and post-Chernobyl syndrome patients // *Polish Journal of Environmental Studie*, 2006; 15 (4A): 94–96.

Starptautisko konferenču un kongresu recenzēto referātu pilnu tekstu (Proceedings) izdevumi

1. Skesters A., Zvagule T., Silova A., Mustafins P., Rainsford K., Rusakova N., Burdukova I., Callingham B. and Larmane L. Selenium and vitamine E in blood of Chernobyl clean-up workers – 20-years after nuclear accident // In: *Proceedings of 23. Workshop Jena, Germany (27 Sept. 2006): Macro and Trace Elements (Mengen- und Spurenelemente): 38 – 43.*

2. Skesters A., Zvagule T., Silova A., Rainsford K., Rusakova N., Burdukova I., Callingham B. Selenium connection with antioxidants in blood of Chernobyl clean-up workers. In: Proceedings of 3rd International Conference "Metals in the Environment". Vilnius, Lithuania, 26 – 29 April, 2006 (ISBN 9955-608-33-1): 203–205.
3. Skesters A., Zvagule T., Rainsford K., Silova A., Rusakova N., Eglite M. and Callingham B. Changes of selenium content in blood of clean-up worker patients after 14—and 19-years period of the nuclear reactor disaster in Chernobyl NPP. In: Proceedings of 5th International Symposium on Trace Elements in Human: New Perspectives. Athens, Greece, 13–15 October, 2005: 676–682.

Publikācijas Latvijas recenzētos zinātniskos izdevumos

1. Lārmane L., Moisejevs G., Rusakova N., Silova A., Šķesters A., Zvagule T. Oksidatīvais stress un tā iespējamā korekcija izmantojot antioksidantus // RSU Zinātniskie raksti: 2010. gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas – Rīga: RSU, 2011; 1.sējums: lpp. 415–421.
2. Šķesters A., Silova A., Rusakova N., Lārmane L., Savickiene N., Kazanavicius G. Oksidatīvais stress un antioksidatīvās aizsardzības potences 2.tipa *Diabetes mellitus* slimniekiem // RSU Zinātniskie raksti: 2010. gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas – Rīga: RSU, 2011; 2.sējums: lpp.202–208.
3. Šķesters A., Zvagule T., Silova A., Rusakova L., Reste J., Lārmane L. Antioksidantu un ibuprofēna ietekme uz oksidatīvo stresu Černobiļas avārijas seku likvidētājiem // RSU Zinātniskie raksti: 2007. gada medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas – Rīga: RSU, 2008. – lpp. 228.–233.

Ziņojumi kongresos un konferencēs

1. Uzstāšanās starptautiskā zinātniskā konferencē ar mutisku referātu

1. N. Savickiene, A. Spadiene, A. Skesters, A. Silova, A. Norkus, R. Ostrauskas. The effect of natural antioxidants on process of complications in patients with type 2 diabetes. Published in abstract book: The 7th International Conference on Diabetes&Obesity. Riga, Latvia. October 24-25, 2013: p. 49.
2. A. Skesters, A. Silova, N. Rusakova, L. Larmane. Metabolic syndrome&Oxidative stress – Strategic role of antioxidants. Metabolic and neurodegenerative. Future vision and applications, 20 years of research. Institute Pasteur, Paris, 5th July, 2013.
3. A. Skesters, A. Silova, A. Spadiene, N. Savickiene, N. Rusakova, L. Larmane. Correction of oxidative stress in *Diabetes mellitus* patients with natural polyphenols. Published in abstract book: 6th ISANH Congress on Polyphenols Applications. Paris, France. June 7–8, 2012: p. 23 (Oral presentation).
4. A. Skesters, A. Silova, N. Savickiene, A. Spadiene, N. Rusakova, L. Larmane. *Diabetes mellitus* complications: oxidative stress and infertility. Published in abstract book: 2nd ISANH World Congress on Fertility&Antioxidants Abstract book, Dec. 6 – 7, 2012: p. 16 (Oral presentation).
5. A. Skesters, L. Larmane, T. Zvagule, A. Silova, N. Rusakova, K. D. Rainsford, B. Callingham. Change of oxidative stress level 25 years after Chernobyl NPP disaster. Published in abstract book: VI Congress of Hungary Free Radicals Research association and Hungary AS Scientific section of Microelement committee. Gödöllő, Hungary. May 27-28 2011: p.15–16 (Oral presentation).
6. Шкестерс А., Силова А. А., Савицкиене Н., Русакова Н., Лармане Л., Спадиене А., Моисеев Г. Редокс-статус крови больных с нововыявленным сахарным диабетом 2-го типа // Материалы седьмой международной конференции “ДОНОЗОЛОГИЯ - 2011” - Санкт-Петербург, 2011 – стр. 637–640.
7. Силова А., Шкестерс А. Значимость показателей карбонильного стресса для диагностики раннего заболевания // Материалы шестой международной конференции „ДОНОЗОЛОГИЯ-2010” - Санкт-Петербург, 2010 – стр. 332-333.

8. A. Skesters., A. Silova., N. Rusakova, N. Savickiene. "Chronic *Diabetes mellitus* and level of trace elements in blood. Published in abstract book: 7th International Symposium on trace elements in human: new perspectives". Athens, Greece, October 13th – 15th, 2009: p. 21.
9. A. Skesters, T. Zvagule, N. Rusakova, L. Larmane, A. Silova. Selenium importance for post-Chernobyl syndrome and severe acute pancreatitis patients". Published in abstract book: 5th International meeting advances in antioxidants (Trace elements, vitamins and polyphenols): Molecular mechanisms, nutritional and clinical aspects. Monastir – Sousse, Tunisia, 11-15th October, 2008: p. 55 – 56.
10. A. Skesters, T. Zvagule, L. Larmane, K. D. Rainsford, A. Silova, P. Mustafin, J. Reste, N. Rusakova, B. Callingham. Effects of selenium, vitamin E and a coenzyme Q₁₀ long-term supplementation in Chernobyl clean-up worker patients at risk of developing prostate symptoms. Published in abstract book: International meeting on the effects of low doses of radiation in biological systems: New perspectives on human exposure. Lisbon, November 27 – 29, 2008: p.135.
11. Шкестерс А., Звагуле Т., Силова А., Лармане Л., Русакова Н., Ресте Е., Габрушева Н., Эглите М. Оксидативный стресс как усугубляющий и сопровождающий фактор развития донозологических и патологических состояний у ликвидаторов аварии на Чернобольской АЭС // Материалы четвертой международной конференции "ДОНОЗОЛОГИЯ-2008" – Санкт-Петербург, 2008 – стр. 86 – 87.
12. Шкестерс А., Звагуле Т., Райнсфорд К., Силова А., Ресте Е., Русакова Н., Лармане Л., Каллингхам Б., Мустафин П. Возможность регуляции оксидативного стресса с помощью селена, токоферола и ибупрофена у ликвидаторов аварии на ЧАЭС // Материалы 3-ей Международной научной конференции "Донозология" – 2007 - Санкт-Петербург, 2007: стр. 333 – 335.

2. Uzstāšanās starptautiskā zinātniskā konferencē ar stenda referātu

1. Skesters A., Silova A., Spadiene A., Savickiene N., Rusakova N., Larmane L. Oxidative stress&metabolic syndrome:what's next? // 12th ISANH International conference on oxidative stress, redox state&antioxidants. Paris, France. July 3–4, 2013; p. 37.
2. Silova A., Skesters A., Zvagule T., Larmane L., Rusakovas N. *Diabetes mellitus*: carbonyl stress and post-Chernobyl-syndrome // 7th ISANH International Conference on Diabetes&Obesity Riga, Latvia. October 24–25, 2013; p. 93.
3. Silova A., Skesters A., Savickiene N., Spadiene A., Rusakova N. The Role of selenium status in long-term supplementatiob with natural antioxidants in patients with type 2 diabetes // 6th ISANH Congress on Polyphenols Applications. Paris, France. June 7–8, 2012; p. 84.
4. Spadiene A., Savickiene N., Zalinkevicius R., Skesters A., Silova A. The intensity of diabetic neuropathy and aberrancy of plasma oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes // International Translational Neuroscience Conference. Kaunas, Lithuania. 16–17 June, 2011; p. 80.
5. Lārmane L., Moisejevs G., Silova A., Rusakova N., Skesters A., Zvagule T. Effects of long-term additional therapy of different antioxidants and ibuprofen on oxidative stress and antioxidatuve potential of the Chernobyl clean-up workers. // 14th International Congress of Radiation Reserch. Warsaw, Poland. 28 August – 1 September, 2011; p. 230.
6. Skesters A., Zvagule T., Larmane L., Silova A., Rusakova N., Rainsford K. Chernobyl clean-up workers: life under long-term oxidative stress. 15 years of experience // 14th International Congress of Radiation Reserch. Warsaw, Poland. 28 August – 1 September, 2011; p. 185.
7. Troscenkovs G., Silova A. The effect of various antioxidants and ibuprofen on the oxidation of proteins in Chernobyl clean-up workers // 6th Baltic Sea Region Conference in Medical Science. Riga, Latvia. April 29– May 1, 2011; p.124.
8. Силова А., Шкестерс А., Савицкиене Н., Русакова Н., Спадиене А., Моисеев Г. Возможное применение препаратов, содержащих флавоноиды, для коррегирования перекисного окисления липидов у больных сахарным диабетом 2-го типа с микроангиопатиями // Материалы седьмой международной конференции "ДОНОЗОЛОГИЯ-2011". Санкт-Петербург, 2011; стр. 523–524.

9. Skesters A., Silova A., Rusakova N., Larmane L., Savickiene N., Kazanavicius G. Oxidative stress and antioxidative potential of *diabetes mellitus* patient prior with natural antioxidants supplementation // 1st World Congress on Oxidative stress, Infertility & Degenerative Diseases. Lyon, France, April 29–30 2010; p. 36–37.
10. A. Skrūzmanis, A. Silova. Influence of Ibuprofen and antioxidants on level of lipids and malondialdehyde in plasma // Abstract book of 1st Baltic sea region students scientific conference in medical sciences. Riga, April 21–22, 2006; p. 66.

3. Uzstāšanās vietēja mēroga zinātniskā konferencē Latvijā ar stenda referātu

1. Zvagule T., Kalniņa I., Kurjāne N., Reste J., Kirilova E. Silova A., Skesters A., Gabruševa N., Kirilovs G., Gonta S., Pīmane E. Albumīna saistību centru raksturojums pacientiem un Černobiļas avārijas seku likvidētājiem ar 2. tipa cukura diabētu (2TCD) // RSU 2013. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2013. – 170. lpp.
2. Silova A., Šķesters A., Savickiene N., Spadiene A., Rusakova N., Lārmane L. Kombinētā preparāta *Grinvitals Cereloba®plus* ilgstošas pielietošanas efektivitātes izvērtēšana 2. tipa cukura diabēta slimniekiem // RSU 2013. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2013. – 91. lpp.
3. Zvagule T., Kalniņa I., Kirilova J., Kurjāne N., Reste J., Silova A., Šķesters A., Gabruševa N., Gorbenko G., Kirilovs G. Limfocītu membrānu pārmaiņu analīze dinamikā Černobiļas avārijas seku likvidētājiem ar 2. tipa cukura diabētu un sirds asinsvadu slimībām // RSU 2012. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2012. – 91. lpp.
4. Silova A., Šķesters A., Zvagule T., Gabruševa N. Lipīdu oksidācijas biomarkieru izmaiņu atšķirības 2. tipa cukura diabēta slimniekiem ar / bez zemas intensitātes jonizējošo starojumu devas // RSU 2012. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2012. – 133. lpp.
5. Silova A., Šķesters A., Lārmane L., Rusakova N., Savickiene N. Selēna nozīme dabīgo antioksidantu darbības efektivitātē oksidatīvā stresa koriģēšanā 2. tipa cukura diabēta slimniekiem // RSU 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2011. – 156. lpp.
6. Šķesters A., Silova A., Rusakova N., Lārmane L., Savickiene N. Oksidatīvā stresa un antioksidatīvās aizsardzības rādītāju attiecības hroniskā II tipa diabēta slimniekiem. // RSU 2010. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2010. – 132. lpp.
7. Silova A., Moisejevs G., Zvagule T., Šķesters A. Oksidatīvā stresa rādītāju – lipīdu un proteīnu izmaiņas Černobiļas AES avārijas seku likvidatoriem pēc ilgstošas dažādu antioksidantu lietošanas // RSU 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2008. – 71. lpp.
8. A. Šķesters, T. Zvagule, A. Silova, N. Rusakova, J. Reste, L. Lārmane. Antioksidantu un ibuprofēna ietekme uz prostatīta attīstības risku Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem: Bioķīmiskais aspekts // RSU 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2007. – 75. lpp.

Konferenču tēzes par pētījuma tēmu

1. Tēzes starptautiskā mēroga konferencē (kongresā) ārpus Latvijas

1. Шкестерс А., Звагуле Т., Силова А., Лармане Л., Русакова Н., Ресте Е., Габрушева Н., Эглите М. Оксидативный стресс как усугубляющий и сопровождающий фактор развития донозологических и патологических состояний у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС // Материалы четвертой международной конференции “ДОНОЗОЛОГИЯ – 2008” - Санкт-Петербург, 2008 – стр. 86 – 87.
2. A. Skesters, B. Rozentale, J. Voicehovska, T. Zvagule, K. D. Rainsford, A. Silova, N. Rusakova, V. Petuhovs, L. Ivanchenko, and L. Larmane. Fluorescence method for Selenium determination in the blood plasma of Bronchial asthma, Hepatitis C virus, HCV / HIV co-infection diseases and post-Chernobyl syndrome patients // The V Symposium on Medical Physics. Ustron, Poland, 20 – 23 Sept., 2006; p. 45.

9. PIELIKUMI

RSU Ētikas komisijas lēmums

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel.409173

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Prof. L. Feldmane	Dr. habil. med.	patologs
2. Asoc.prof. J. Lācis	Dr.med.	terapeits
3. Prof. L.AberbergaAugškalne	Dr. habil.med.	fiziologs
4. Asoc. prof. I.Bārene	Dr. pharm.	farmaceits
5. Prof. U.Teibe	Dr. biol.	fiziķis
6. Doc. E.Daugulis	Dr.med.	reanimatologs
7. Asoc. Prof. A.Skutelis	Dr. med.	farmakologs
8. Prof. J.Baltkājs	Dr. habil. med.	farmakologs

Pieteikuma iesniedzējs M. Eglīte
RSU Darba un vides veselības institūts

Pētījuma nosaukums: Antioksidantu terapijas efekts uz progresējošām izmaiņām prostatā
Černobiļas AES avārijas seku likvidatoriem.
Iesniegšanas datums: 9.12.2004.

Izskatītie dokumenti :

(X) Pētījuma protokols:

Piezīme: pētījuma protokola latviešu un angļu variantos nelielas atšķirības.

(X) Pētījuma populācija: vīrieši ar paaugstinātu PSA līmeni, vecāki par 40 un jaunāki par 65 g.

(X) Informācija par pētījumu:

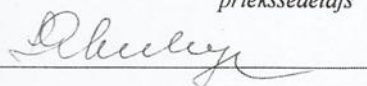
Ētiskā aspekta ieteikumi: jānorāda, ko tieši noteiks asiņu paraugos un kādas var būt
blaknes terapijai

(X) Piekrišana piedalīties pētījumā:

Lēmums: pozitīvs – piekrist biomedicīniskajam pētījumam pēc papildinājumu iesniegšanas.

Vārds, uzvārds: Līga AberbergaAugškalne Tituls: Dr.habil. med., prof.
priekšsēdētājs

Paraksts



Ētikas komitejas sēdes datums: 05.01.2005.



RSU Ētikas komisijas lēmums (angļu val.)

ETHICS COMMITTEE: Approval

Ethics Committee
Riga Stradins University
16 Dzirciema Str., RIGA, LATVIA LV-1007

Member Name	Qualification	Occupation
1. Prof. L. Feldmane	Dr. habil. med.	pathologist
2. Assoc. prof. J. Lācis	Dr. med.	internist
3. Prof. L. Aberberga Augškalne	Dr. habil. med.	physiologist
4. Assoc. prof. I. Bārene	Dr. pharm.	pharmacist
5. Assoc. prof. A. Skutelis	Dr. med.	pharmacologist
6. Assoc. prof. U. Teibe	Dr. biol.	physicist
7. L. Antonoviča		vivarium manager

Investigators Name: A. Šķesters, M. Eglīte

Department (Unit): Laboratory of Biochemistry Riga Stradins University

Documents Reviewed:

(X) Protocol Title: Effects of Ibuprofen alone and with Anti-oxidant Mixture in Chernobyl Clean-up Worker Patients at Risk of Developing Prostate Symptoms.

(X) Protocol Amendments: none

(X) Study object: 60 patients in three parallel treatment groups

(X) Case Report Forms

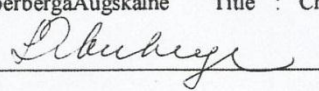
(X) Investigator Brochure

(X) Consent Form/Information Sheet: separate for each group

Any other documents: Latvia's Drug Registry, 2001.

Approval is given to conduct the biomedical investigation.

Name: Līga Aberberga Augškalne Title : Chair

Signature: 

(Chair/Deputy)

Date of EC Meeting: 11.03. 2005.



Informācija pacientam (I pētījums)

INFORMĀCIJA PACIENTAM

NOSAUKUMS: “Ibuprofena un (vai) antioksidantu terapijas efekts uz progresējošām izmaiņām prostatā Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem”

PROTOKOLA Nr.

Šī apstiprinājuma forma var saturēt terminus, kurus Jūs nesaprotat. Lūdzu jautājiēt Jūsu ārstējošajam ārstam - pētniekam.

Godājamo pacient,

Medicīnā bieži zāles, vitamīnus un mikroelementus, kuras lietoja vienas slimības novēršanai vai ārstēšanai, sāk lietot lai novērstu vai ārstētu arī citas slimības. Dažreiz izmaina tikai preparātu devas vai tos kombinē ar citiem. Mēs Jums piedāvājam Dānijā ražoto ar selēnu bagātināto rauga preparātu “SelenoPRECISE” un Vitamīnu E, kā arī AS “Olainfarm”, Latvija, ražoto “Ibuprofen”, kuri ir nekaitīgi pat daudzkārt pārsniedzot ieteikto devu. Šie preparāti jau ilgstoši tiek plaši lietoti pasaulē un arī Latvijas Republikā. Tie ir reģistrēti LR un ir brīvi nopērkams aptiekās kā bezrecepšu preparāts. Tie atļauti izmantošanai arī bērnu praksē.

Ja pētījuma rezultāti būs pārliecinoši pozitīvi, tad šo preparātu komplekss tiks ieteikts regulārai lietošanai Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem un personām, kurām diagnosticēti izteikti iekaisuma procesi, izmaiņas prostatā, stress. Piedāvāto preparātu pētījuma laikā Jūs saņemsiet bez maksas.

Pētījums noritēs saskaņā ar "Helsinku Deklarāciju" un pētījuma norisi ir akceptējusi Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja.

Tikai pēc visu *par* (indikācijas) un *pret* (kontrindikācijas) izvērtēšanas, Jūsu ārsts izlems, vai piedalīšanās pētījumā Jums ir vēlama.

Pielietojamo preparātu, vitamīnu un mikroelementu sastāvs tieši Jums

“SelenoPRECISE” tablete satur 200µg (mikrogramus, tas ir divas desmitūkstošās daļas no grama) organiskā selēna.

“Vitamine E” kapsula satur 350mg (miligramus) tīra vitamīna E (tokoferola acetāta);

“Ibuprofen” tablete satur 200mg (miligramus) darbīgās vielas

Preparātu galvenās īpašības

Selēns un Vitamīns E darbojas saliedēti viens otru pastiprinot, uzlabojot uzsūkšanos un izmantošanu organismā. Tiem abiem piemīt antioksidantu īpašības. Abi darbojas kā pretiekaisuma līdzekļi. Paaugstina organisma imunitāti un darbojas arī kā dzimumspēju stimulatori – uzlabo reproduktīvās funkcijas vīriešiem.

Ibuprofēns darbojas kā nesteroīdas dabas pretiekaisuma un prētsāpju līdzeklis,

Preparāti nav toksiski. Pētījumā piedāvātā deva katram no tiem būs 3 reizes mazāka par augstāko ieteicamo diennakts devu.

Pētījuma mērķis, uzdevums un plāns:

1. Selēna, vitamīna E, oksidatīvā stresa un kopējās antioksidatīvās aizsardzības izmaiņas piedāvātās terapijas gaitā;
2. Pamatojoties uz specifiskajiem rādītājiem (marķieriem) noskaidrot vai samazinās iespēja saslimt ar kādu no prostatas slimībām, tai skaitā ar prostatas hiperplāziju,

- prostatītiem un prostatas vēzi.
3. Izmantot Šefildas Universitātes Biomedicīnas centra un Randox laboratories aparāturu, būs iespēja ievērojami papildināt diagnostikas iespējas pacientiem.
 4. Pētījuma rezultātā izveidot shēmu un metodiku antioksidantu lietošanai, lai samazinātu oksidatīvo stresu kā vienu no cēloņiem prostatas vēža attīstībai Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem.
- Kopējais pētījuma ilgums paredzēts trīs gadi.

Pētījuma gaita

Pēc pētījuma izskaidrošanas un atbildēm uz Jūsu iespējamajiem jautājumiem, Jums lūgs parakstīt "*Vienošanās protokolu un informētības apstiprinājumu*" šajā pētījumā.

Ja Jūs piekritīsit piedalīties, ārsts Jums izsniegs preparātus ar lietošanas instrukciju.

Ja tomēr šie preparāti radīs kādas nepatīkamas sajūtas, lūdzam steidzami informēt ārstu – pētnieku.

Pētījuma laikā Jums būs 4 reizes jānodod analīzes (asinis): pirms pētījuma, pēc 1, 6 un 12 mēneša pēc preparāta lietošanas sākuma.

Konfidencialitāte

Jūsu medicīniskie dati ir pilnīgi konfidenciali. Nebūs iespējams identificēt Jūs ne zinātniskajos ziņojumos, nedz arī publikācijās.

Parakstot "*Vienošanās protokolu un informētības apstiprinājumu*", Jūs piekrītat, ka īpašos gadījumos personīgos datus var pārbaudīt kompetentas nacionālas autoritātes vai sponsora pilnvarotas personas, taču netiks atklāti kādai citai pusei.

Pārpalikušais bioloģiskais materiāls (asinis) netiks izmantots citiem pētījumiem vai uzglabāts.

Brīvprātības princips / Izstāšanās no pētījuma

Jūsu piedalīšanās pētījumā ir pilnīgi brīvprātīga.

Jūs varat izstāties vai pārtraukt pētījumu jebkurā laikā bez riska un turpmākās vai esošās aprūpes draudiem. Šajā gadījumā ārsts Jūs turpinās ārstēt ar pieņemto standarta terapiju kā līdz šim.

Papildus tam, ārstējošais ārsts var izslēgt Jūs no pētījuma medicīnisku vai citādu iemeslu dēļ jebkurā laikā gadījumā, ja tas ir nepieciešams.

Atbildīgais par klīnisko pētījumu: prof. Maija Eglīte tālr. **7409139**
/vārds, uzvārds, tālrunis/

Ārstējošais ārsts: Tija Zvagule, M.D. tālr. **7069377**
/vārds, uzvārds, tālrunis/

Informācija pacientam (II pētījums)

INFORMĀCIJA PACIENTAM

NOSAUKUMS: "Ibuprofena un (vai) antioksidantu terapijas efekts uz progresējošām izmaiņām prostatā Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem"

PROTOKOLA Nr.

Šī apstiprinājuma forma var saturēt terminus, kurus Jūs nesaprotat. Lūdzu jautāties Jūsu ārstējošajam ārstam - pētniekam.

Godājamo pacient,

Medicīnā bieži zāles, vitamīnus un mikroelementus, kuras lietoja vienas slimības novēršanai vai ārstēšanai, sāk lietot lai novērstu vai ārstētu arī citas slimības. Dažreiz izmaina tikai preparātu devas vai tos kombinē ar citiem. Mēs Jums piedāvājam Dānijā ražoto ar selēnu bagātināto rauga preparātu "SelenoPRECISE" (200µg), Koenzīmu Q₁₀ (100mg), "Olainfarm"(Latvija) ražotos "Ibuprofen" (200mg) un "Omeprozol" (20mg), kuri ir nekaitīgi pat daudzkārt pārsniedzot ieteikto devu. Šie preparāti jau ilgstoši tiek plaši lietoti pasaulē un arī Latvijas Republikā. Tie ir reģistrēti LR un ir brīvi nopērkams aptiekās kā bezrecepšu preparāts. Tie atļauti izmantošanai arī bērnu praksē.

Ja pētījuma rezultāti būs pārliecinoši pozitīvi, tad šo preparātu komplekss tiks ieteikts regulārai lietošanai Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem un personām, kurām diagnosticēti izteikti iekaisuma procesi, izmaiņas prostatā, stress. Piedāvāto preparātu pētījuma laikā Jūs saņemsiet bez maksas.

Pētījums noritēs saskaņā ar "Helsinku Deklarāciju" un pētījuma norisi ir akceptējusi Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja.

Tikai pēc visu *par* (indikācijas) un *pret* (kontraindikācijas) izvērtēšanas, Jūsu ārsts izlems, vai piedalīšanās pētījumā Jums ir vēlama.

Pielietojamo preparātu, vitamīnu un mikroelementu sastāvs tieši Jums

"SelenoPRECISE" tablete satur 200µg (mikrogramus, tas ir vienu desmtūkstošo daļu no grama) organiskā selēna.

Koenzīmu Q₁₀ kapsula satur 100mg (miligramus) darbīgās vielas;

Ibuprofena viena tablete satur 200mg (miligramus) darbīgās vielas;

Omeprozola viena tablete satur 20mg (miligramus) darbīgās vielas.

Preparātu galvenās īpašības

Selēns un Koenzīmu Q₁₀ darbojas saliedēti viens otru pastiprinot, uzlabojot uzsūkšanos un izmantošanu organismā. Tiem piemīt antioksidantu īpašības, koenzīmam Q₁₀ raksturīgi ne tikai tas, ka preparāta antioksidantīvās īpašības izpaužas galvas smadzenēs, ievērojami uzlabojot antioksidatīvo aizsardzību, bet tam piemīt arī izteiktas „enerģētiska” īpašības. Ibuprofens un Omeprozols darbojas kā pretiekaisuma līdzekļi. Preparāti nav toksiski. Pētījumā piedāvātā deva katram no tiem būs 3 reizes mazāka par augstāko ieteicamo diennakts devu.

Pētījuma mērķis, uzdevums un plāns:

1. Selēnaun Koenzīma Q₁₀ oksidatīvā stresa un kopējās antioksidatīvās aizsardzības izmaiņas piedāvātās terapijas gaitā;
2. Pamatojoties uz specifiskajiem rādītājiem (marķieriem) noskaidrot vai samazinās iespēja saslimt ar kādu no prostatas slimībām, tai skaitā ar prostatas hiperplāziju.

prostatītiem un prostatas vēzi.

3. Izmantot Šēfildas Universitātes Biomedicīnas centra un Randox laboratorijas aparatūru, būs iespēja ievērojami papildināt diagnostikas iespējas pacientiem.
 4. Pētījuma rezultātā izveidot shēmu un metodiku antioksidantu lietošanai, lai samazinātu oksidatīvo stresu kā vienu no cēloņiem prostatas vēža attīstībai Čīnabīļas AES avārijas seku likvidētajiem.
- Kopējais pētījuma ilgums paredzēts pieci gadi.

Pētījuma gaita

Pēc pētījuma izskaidrošanas un atbildēm uz Jūsu iespējamajiem jautājumiem, Jums lūgs parakstīt *"Vienošanās protokolu un informētības apstiprinājumu"* šajā pētījumā.

Ja Jūs piekritīsiet piedalīties, ārsts Jums izsniegs preparātus ar lietošanas instrukciju.

Ja tomēr šie preparāti radīs kādas nepatīkamas sajūtas, lūdzam steidzami informēt ārstu – pētnieku.

Pētījuma laikā Jums būs 4 reizes jānodod analīzes (asinis): pirms pētījuma, pēc 1, 6 un 12 mēneša pēc preparāta lietošanas sākuma.

Konfidentialit te

Jūsu medicīniskie dati ir pilnīgi konfidenciali. Nebūs iespējams identificēt Jūs ne zinātniskajos ziņojumos, nedz arī publikācijās.

Parakstot "*Vienošānās protokolu un informētības apstiprinājumu*", Jūs piekrītat, ka īpašos gadījumos personīgos datus var pārbaudīt kompetentas nacionālās autoritātes vai sponsora pilnvarotas personas, taču netiks atklāti kādai citai pusei.

Pārpalikušais bioloģiskais materiāls (asinis) netiks izmantots citiem pētījumiem vai uzglabāts.

Brīvprātības princips / Izstāšanās no pētījuma

Jūsu piedalīšanās pētījumā ir pilnīgi brīvprātīga.

Jūs varat izstāties vai pārtraukt pētījumu jebkurā laikā bez riska un turpmākās vai esošās aprūpes draudiem. Šajā gadījumā ārsts Jūs turpinās ārstēt ar pieņemto standarta terapiju kā līdz šim.

Papildus tam, ārstējošais ārsts var izslēgt Jūs no pētījuma medicīnisku vai citādu iemeslu dēļ jebkurā laikā gadījumā, ja tas ir nepieciešams.

Atbildīgais par klīnisko pētījumu: prof. Maija Eglīte tālr. 67409139
/vārds, uzvārds, tālrunis/

Ārstējošais ārsts: Tija Zvagule, M.D. tālr. 67069377
/vārds, uzvārds, tālrunis/

Vienošanas protokols un informētības apstiprinājums

VIENOŠANĀS PROTOKOLS UN INFORMĒTĪBAS APSTIPRINĀJUMS.

Ar šo es:....., dzimis: 19.....gadā,

dzīvoju:.....

Tālrunis:

paziņoju, ka esmu lasījis šī pētījuma "*pacienta informācijas*" lapu.

Es saprotu šī pētījuma mērķus un iespējamo labumu manai veselībai. Man bijusi iespēja apspriest pētījumu ar manu ārstējošo ārstu un uzdot viņam mani interesējošus jautājumus. Atbildes uz visiem maniem jautājumiem mani pilnībā apmierina.

Es esmu īpaši informēts par iespējamajām blaknēm.

Esmu lūgts informēt savu vai kādu citu ārstu pēc iespējas ātrāk, ja parādās izteiktas sūdzības.

Esmu saņēmis arī rakstisku informāciju.

Es saprotu, ka varu uzdot jautājumus par visām neskaidrībām pētījuma laikā.

Man ir bijis pietiekoši ilgs laika periods izlemšanai par vai pret piedalīšanos pētījumā.

Esmu informēts, ka citas zāles, it īpaši pretiekaisuma, vitamīnus, vitamīnu kompleksus ar minerālvielām un/vai antioksidantiem, drīkst lietot tikai saskaņojot ar ārstējošo ārstu - pētnieku.

1. *Es piekrītu piedalīties pētījumā.*
2. *Ārsts-pētnieks mani personīgi informējis par pētījuma nozīmi, iespējām, raksturu un to, ka jebkurā laikā varu pārtraukt dalību pētījumā un tas neietekmēs manu tagadējo un turpmāko medicīnisko aprūpi.*
3. *Šis dokuments un paskaidrojumi sniegti man saprotamā valodā.*
4. *Es saprotu, ka mana personīgā informācija (Identitāte) netiks atklāta. Ierakstus par manu piedalīšanos ārsts un pētnieki glabās slepenībā.*

Pacienta paraksts: 200 . gada "...."

Ārsts-pētnieks: Es apstiprinu, ka Pacienta piekrišanas dokuments ir saņemts manā klātbūtnē pēc tam, kad esmu Pacientu pilnībā informējis.

Ārsts - pētnieks: Tija Zvagule, M.D.

200 . gada "...."

Kauņas reģionālās biomedicīnas pētījumu

Ētikas komitejas atļauja (III pētījums)

20-APR-2009 10:54 From:KMU RASTINE

+37037220733

To: +3717471815

P.1/1



KAUNO REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
 KMUK Eivenių 2, Centrinis korpusas 71 kab., 50009 Kaunas, tel. +370 37 326168, faks. +370 37 326901, e-mail: cmeinfo@kmu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2009-04-15 Nr. BE-2-5

Biomedicininio tyrimo pavadinimas: „**Natūralių antioksidantų poveikio cukrinio diabeto komplikacijų vystimuisi metodologijos sukūrimas**“

Pagrindinis tyrėjas: **Prof. Nijolė Savickienė**

Biomedicininio tyrimo vieta: **KMU Endokrinologijos klinika**
 Įstaigos pavadinimas: **Eivenių g. 2, LT-50009 Kaunas**
 Adresas:

Išvada:

Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto posėdžio, įvykusio **2009m. balandžio 7 d.** (protokolo Nr. 34/2009) sprendimu pritarė biomedicininio tyrimo vykdymui.

Mokslinio eksperimento vykdytojai įsipareigoja: (1) nedelsiant informuoti Kauno Regioninį biomedicininio tyrimų etikos komitetą apie visus nenumatytus atvejus, susijusius su studijos vykdymu, (2) iki sausio 15 dienos pateikti metinį studijos vykdymo apibendrinimą bei, (3) per mėnesį po studijos užbaigimo, pateikti galutinį pranešimą apie eksperimentą.

Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto nariai			
1.	Doc. Irena Marchertienė	anestezilogija	taip
2.	Doc. Romaldas Mačiulaitis	klinikinė farmakologija	taip
3.	Prof. Nijolė Dalia Baksienė	pediatrija	taip
4.	Prof. Irayda Jakuševaitė	filosofija	taip
5.	Dr. Elmantas Pečiūš	filosofija	taip
6.	Laima Vasiliauskaitė	psichoterapija	taip
7.	Gintaras Česnauskas	chirurgija	ne
8.	Zelmanus Šapiro	terapija	ne
9.	Jurgita Laurinaitytė	bioteisė	ne

Kauno regioninis biomedicininio tyrimų etikos komitetas dirba vadovaudamasis etikos principais nustatytais biomedicininio tyrimų etikos įstatyme, Helsinkio deklaracijoje, visuotinio tyrimo Geros klinikinės praktikos taisyklėmis.

Pirmmininkė

Irena Marchertienė