



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Alise Silova

OKSIDATĪVĀ STRESA
RĀDĪTĀJU IZMAIŅAS UN
KOREKCIJAS IESPĒJAS ATSEVIŠĶU
PATOLOĢIJU GADĪJUMOS

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – bioķīmija

Rīga, 2015

Promocijas darbs izstrādāts:

Rīgas Stradiņa universitātes Bioķīmijas laboratorijā sadarbībā ar Šefīldas Hallama universitātes Biomedicīnas pētījuma centru un *Randox Laboratories, Ltd* (AK), P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centru, Kauņas Medicīnas universitātes Endokrinoloģijas klīniku un Lietuvas veselības zinātņu universitātes slimnīcas Kauņas klīniku.

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. biol. asociētais profesors **Andrejs Šķesters**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Zinātniskais konsultants:

Biomedicīnas zinātņu emirētais profesors **Kims D. Rainsfords**,
Šefīldas Hallama universitātes Biomedicīnas pētījuma centrs,
Apvienotā karaliste (AK)

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. **Inese Mārtiņšone**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
Dr. biol. **Dace Tirzīte**, Latvijas Organiskās sintēzes institūts
Dr. habil. med. profesors **Arunas Savickas**, Lietuvas veselības
zinātņu universitātes Zāļu tehnoloģijas un sociālās farmācijas katedra,
Kauņa, Lietuva

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2015. gada 20. aprīlī plkst. 15.00
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē
Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

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



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



EIROPAS SAVIENĪBA

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

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. **Anda Karnīte**

SATURS

1.Problēmas aktualitāte	6
Darba mērķi.....	10
Darba uzdevumi.....	10
Darba hipotēzes.....	11
Darba zinātniskā novitāte.....	11
Promocijas darba apjoms un struktūra.....	13
2.Materiāli un metodes	13
2.1. I pētījuma dizains.....	13
2.2. II pētījuma dizains.....	15
2.3. III pētījuma dizains.....	17
2.4. IV pētījuma dizains.....	18
2.5. Datu statistiskā apstrāde.....	20
3.Galvenie rezultāti un diskusija.....	21
3.1. I pētījums	21
3.2. II pētījums	35
3.3. III pētījums	43
3.4. IV pētījums	53
4. Secinājumi.....	60
Promocijas darbā izvirzīto hipotēžu apstiprinājums.....	60
5. Praktiskās rekomendācijas.....	62
Pateicības	63
Publikācijas un ziņojumi par pētījuma tēmu.....	65
Izmantotā literatūra.....	71

Darbā lietotie saīsinājumi

ATP	– adenoziņa 5'-trifosfāts
AO	– antioksidanti
AOS	– antioksidatīvā sistēma
AES	– atomelektrostacija
ASF	– aktīvās skābekļa formas
ATP	– adenozintrifosfāts
CEA	– karcinoembriālais antigēns
COX	– ciklooksigenāze
CD	– cukura diabēts
Cu, Zn-SOD	– superoksīddismutāze
ČAES	– Černobiļas AES
d.	– dienā
GB	– <i>Ginkgo biloba</i>
GPx	– glutationperoksidāze
GSH	– reducētais glutations
GSSG	– oksidētais glutations
GV	– Grinvitals cereloba plus
HbA1c	– glikozilētais hemoglobīns
4-HNE	– 4-hidroksinonenāls
IBF	– ibuprofēns
JS	– jonizējošais starojums
KLF	– klastogēnie faktori
ķMI	– ķermeņa masas indekss
LOX	– lipoksigenāze
LOOH	– lipīdu hidroperoksīdi
LPO	– lipīdu peroksidācija
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
OS	– oksidatīvais stress
PF	– polifenoli
PK	– proteīnkarbonili
PSA	– prostatas specifiskais antigēns
Se	– selēns
TAS	– totālais antioksidantu statuss
2TCD	– 2.tipa cukura diabēts
TBS_MDA	– ar tiobarbitūrskābi reaģētspējīgie savienojumi
VE	– E vitamīns
ZT	– zaļā tēja

1. PROBLĒMAS AKTUALITĀTE

Mūsdienās viena no globālajām ekoloģiskām problēmām ir radioaktīvais piesārņojums. Jau notikušās lielās tehnogēnās avārijas AES (Černobiļas un Fukušimas), kā arī to iespējamība citos objektos, radioaktīvo atkritumu un kodolieroču izplatīšanās draudi – tie ir vien daži no ļoti nopietniem riskiem, ka radiācijas fons paaugstināsies un negatīvai ietekmēs 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 ārstēšanas 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 pavērsienu medicīnas zinātnē. Epidemioloģiskie pētījumi, piemēram, “Franču paradokss” un “Spāņu Vidusjūras diēta”, kā arī Somijā veiktā augsnes pastiprināta mēslošana ar selēnu (Se) saturošu minerālmaisījumu (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 dēvē par aktīvajām skābekļa / slāpekļa formām (ASF). Aktīvās skābekļa formas piedalās normālos fizioloģiskos dzīvības procesos – tās regulē šūnu proliferāciju, realizē makrofāgu aizsargājošo darbību organismā –, 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 šūnas bojāeju. Tādējādi pastiprinātas ASF veidošanās un AOS nepietiekošas efektivitātes dēļ pieaug OS, kas vēl vairāk veicina patoloģisko procesu attīstību.

Tā kā Latvijas Černobiļas AES avārijas seku likvidētāji atgriezās Latvijā pēc avārijas darbiem relatīvi tīrā (no ekoloģiskā viedokļa) vidē, izmaiņas viņu organismā attiecināmas uz JS iedarbības attālām sekām. 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. 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. Kaut arī veikti daudzi pētījumi par jonizējošā starojuma bioloģisko iedarbību uz organismu, tomēr vēl palicis daudz neskaidrību.

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.

Starp KLF un OS rādītājiem ir atrastas korelatīvas sakarības. Klastogēno faktoru veidošanās un sekojošs hromosomu bojājums ir pastarpināts ar dažādas izcelsmes paaugstinātu superoksīda radikāļu rašanos, tos neitralizē enzīms – superoksīddismutāze (SOD). Savukārt KLF arī paši ierosina šā radikāļa veidošanos no monocītiem un neitrofiliem. Izšķir trīs galvenos ķīmiskas dabas endogēnos klastogēnus:

- 1) lipīdu peroksidācijas (LPO) produktus, kuri rodas arahidonskābes metabolismā, sevišķi 4-HNE;
- 2) citokīnu TNF- α ;
- 3) nukleotīdus – inozīna di- un trifosfātus [Emerit, 2007].

Vairumā pētījumu pierādīts, ka būtiska loma vaskulāro komplikāciju attīstībā ir hroniskai hiperglikēmijai, kuras mehānisms šo komplikāciju attīstībā vēl joprojām nav līdz galam izziņāts.

Viena no hipotēzēm, kāpēc hiperglikēmija izraisa diabēta komplikācijas, ir OS palielināšanās, kuru savukārt var veicināt superoksīdanjonradikāļu pārprodukcija mitohondrijos. Diabēta ierosinātās superoksīda pārprodukcijas terapeitiskai koriģēšanai var lietot AO, lai mazinātu glikozes autooksidāciju, glikāciju un lipīdu oksidēšanos un līdz ar to uzturētu endotēlija strukturālo un funkcionālo integritāti.

Radiācijas ierosināto bojājumu un diabēta hronisko komplikāciju mazināšanai nepieciešams izstrādāt farmakoloģisku stratēģiju. Lai varētu efektīvi veikt farmakoloģisko intervenci, izmantojot AO, ir svarīgi izziņāt ASF izraisīto bojājumu molekulāros mehānismus. Pašreiz nav standartmetodes oksidatīvā stresa izvērtēšanai, lai gan ir pieejami dažādi paņēmieni, kā iegūt ar aktīvām skābekļa formām saistītus rādītājus. 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.

Antioksidantu terapijas izmantošana tiek uzskatīta par perspektīvu pieeju, lai ārstētu pacientus ar slimībām, kuru viens no patogēnētiskajiem faktoriem ir OS. 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 (šūnās) parādīts, ka AO aizsargā pret radiācijas izraisītajām onkoģenētiskajām transformācijām, kas neuzrādīja tādu pašu efektu pētījumos ar cilvēkiem.

Līdz šim 2TCD un tā izsaukto komplikāciju terapijā nav atrasta vieta AO kā līdzvērtīgiem profilakses un / vai terapijas līdzekļiem. Lai gan polifenoli kā dabiskie antioksidanti ir plaši pārstāvēti, tomēr to lielā nozīme veselības profilaksē un uzlabošanā ir atklāta samērā nesen. 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]. Flavonoīdi, atbilstoši savai struktūrai, *in vitro* un *in vivo* uzrāda nozīmīgas īpašības, kas kavē AO un dziļās glikēšanās galaproduktu 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].

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.

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 rādītāji) izmaiņas un to koriģēšanas iespējas, lietojot AO pacientiem ar minētajām patoloģijām.

OS rādītāju izmaiņas tika pētītas ČAES avārijas seku likvidētājiem pēc hidrofilo un lipofilo AO (VE, Se, KoQ₁₀) lietošanas kombinācijā ar vienu no neselektīvajiem pretiekaisuma līdzekļiem – ibuprofēnu, bet 2TCD pacientiem pēc dabiskas izcelsmes polifenolus saturošu preparātu (*Ginkgo biloba*, *Camellia sinensis* – zaļā tēja) lietošanas.

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 oksidatīva stresa rādītājos, salīdzinot ar 2TCD pacientiem un Černobiļas AES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD.

Darba zinātniskā novitāte

1. Darbā 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*, zaļās tējas 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.

Promocijas darba apjoms un struktūra

Promocijas darbs ir sarakstīts latviešu valodā. Tam ir deviņas daļas: literatūras apskats, darba materiāli un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi, praktiskās rekomendācijas, izmantotā literatūra, publikācijas par pētījuma tēmu un pielikumi. Promocijas darba apjoms ir 153 lappuses. Darbs satur 75 attēlus un 32 tabulas, 6 pielikumus. Literatūras sarakstu veido 221 literatūras avoti. Saistībā ar promocijas darba tēmu ir 18 publikācijas.

2. MATERIĀLS UN METODES

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”.

Pētījumi saskaņoti ar RSU Ētikas komiteju (lēmumi 05.01.2005. un 11.03.2005). Katrs pētījuma dalībnieks tika iepazīstināts ar pētījumu un sniedza rakstisku piekrišanu. III pētījuma veikšana saskaņota ar Kauņas reģionālās biomedicīnas pētījumu Ētikas komiteju (atzinums 15.04.2009., Nr. BE-2-5).

2.1. I pētījuma dizains

Pētījums veikts 2005.–2006. g. un tajā bija iekļauti ČAES avārijas seku likvidētāji, kuri objektā strādāja 1986.–1989. g. un tur saņēma ne vairāk kā 200 mSV ($135,72 \pm 68,81$, vid. $\pm$ SD) jonizējošā starojuma. Pētījuma dalībnieku skaits – 82, dzimums – vīrieši, vecums 38–55 gadi ($49,9 \pm 5,6$, vid. $\pm$ SD).

Pētījuma dalībnieki bija sadalīti četrās grupās un saņēma šādus preparātus: selēnmetionīnu (Se-Met) – patentēts rauga selēns (*EP Patent No 1 478 732 B1*), ko satur “Seleno Precise” (*Pharma Nord*, Dānija); E vitamīnu (d- α - tokoferols), ko satur “Bio-E-Vitamin” (*Pharma Nord*, Dānija); ibuprofēnu

(a/s “Olainfarm”, Latvija) ; *placebo* – selēnu, E vitamīnu, ibuprofēnu (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	<i>Placebo</i> , viena tablete no rīta
IBF (N = 20)	<i>Placebo</i> , viena tablete no rīta	<i>Placebo</i> , 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
<i>Placebo</i> (N = 20)	<i>Placebo</i> , viena tablete no rīta	<i>Placebo</i> , viena kapsula no rīta	<i>Placebo</i> , viena tablete no rīta un vakarā

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

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

Paraugu savākšana: P. Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas (KUS) Aroda un radiācijas medicīnas centrā 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), ar tiobarbitūrskābi reaģētspējīgie savienojumi (TBS_MDA), plazmas hemiluminiscences (HL) rādītāji, karcinoembriālais antigēns (CEA), kopējais prostatas specifiskais antigēns (PSA), brīvais PSA.

Pētījuma zinātniskais konsultants: Šefīldas Helama universitātes Biomedicīnas pētījuma centra emirētais biomedicīnas zinātnieks profesors K. D. Rainsfords (Apvienotā Karaliste (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.).

2.2. II pētījuma dizains

Pētījums veikts 2008.–2009. g. un tajā bija iekļauti ČAES avārijas seku likvidētāji, kuri piedalījās darbos objektā 1986.–1989. g., saņemot ne vairāk kā 200 mSV ($135,72 \pm 68,81$, vid. $\pm$ SD) jonizējošā starojuma, dalībnieku skaits – 75, dzimums – vīrieši, vecums 45–57 gadi ($51,0 \pm 6,0$, vid. $\pm$ SD).

Pētījuma dalībnieki bija sadalīti trīs grupās un saņēma šādus preparātus: Se-Met – patentēts rauga selēns (*EP Patent No 1 478 732 B1*), ko satur “SelenoPrecise” (*Pharma Nord*, Dānija), koenzīmu Q₁₀ (ubihinols) (*Pharma Nord*, Dānija), ibuprofēnu (a/s “Olainfarm”, Latvija), omeprazolu (a/s “Olainfarm”, Latvija).

Preparāti un pētījuma dalībnieku sadalījums pa grupām

Grupa	Se-Met	Koenzīms Q₁₀	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

Izslēgšanas faktori – analogi I pētījumam.

Pētījuma laikā tā dalībniekus novēroja ārsti un dinamikā nopietnas novirzes nebija konstatētas

Paraugu savākšana: P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centrā tika paņemtas venozās asinis pētījuma sākumā, pēc trim un sešiem mēnešiem. Pētījuma sākumā (0 mēn.) un beigās (6. mēn.) tika noteikti šādi rādītāji: Cu, Zn-superoksīddismutāzes (Cu, Zn-SOD) un glutationperoksīdāzes (GPx) aktivitātes, VE, malondialdehīds (MDA) un 4-hidroksinonenāls (4-HNE). Pētījuma sākumā, 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) un albumīns (ALB).

Pētījuma zinātniskais konsultants: Šefīldas Helama 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 Čerobiļas AES avārijas seku likvidētājiem” (2007.– 2009. g.).

2.3. III pētījuma dizains

Pētījums veikts 2009.–2011. g. un tajā bija iekļauti pacienti no Kauņas Medicīnas universitātes Endokrinoloģijas klīnikas un Lietuvas Veselības zinātņu universitātes Kauņas klīnikas ar diabēta izraisītu retinopātijas, nefropātijas vai neiropātijas attīstību. Piedalījās abu dzimumu pacienti.

Izlēgšanas faktori: iekļauj $HbA_{1c} > 13\%$, ķermeņa masas indekss $> 45 \text{ kg/m}^2$, nekontrolētas hipertenzijas vēsture, citas nozīmīgas medicīniskās problēmas (kardiovaskulārās, aknu, endokrīnās saslimšanas), paaugstināta jutība pret pētījumā iekļautajiem preparātiem, nespēja ievērot pētījuma protokolu.

Kopā ar terapijā lietotiem medikamentiem – metformīnu un insulīnu – tika izmantoti šādi preparāti:

- *Ginkgo Biloba* lapu standartizēts sausais ekstrakts (GB) (a/s “Aconitum”, Lietuva) – viena kapsula satur 80 mg EGb, no kura 19,2 mg ir *Ginkgo* flavonglikozīdi un 4,8 mg terpēnlaktoni (ginkolīdi, bilobalīdi);

- zaļās tējas (*Camellia sinensis*) standartizēts lapu ekstrakts (ZT) (a/s “Sanitas”, Lietuva) – viena kapsula satur 200 mg ECs (75% polifenolu);

- *Grinvitals Cereloba plus* (GV) (a/s “Grindeks”, Latvija) – viena tablete satur 37,5 mg EGb – (flavonglikozīdus 9 mg, terpēnlaktonus 2,2 mg), 37,5 mg ECs (polifenolu 22,5 mg) un ķiploku ekstrakta pulveris 100 mg (3 mg *Allium sativum*);

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

Preparāti un pētījuma dalībnieku sadalījums pa grupām

Grupa	Preparāts	Vidējais vecums, gados	Vidējais slimības ilgums, gados	Preparātu lietošana, mēnešos	
				0–9	10–18
GB (N = 26)	<i>Ginkgo Biloba</i> 80 mg	61,2 ± 10,6	10,5 ± 7,5	Viena kapsula / tablete divas reizes	Viena kapsula / tablete 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</i> <i>Cereloba® plus</i>	62,3 ± 6,5	10,5 ± 4,2		
Placebo (N = 26)	<i>Placebo</i>	61,8 ± 11,7	11,5 ± 8,0		

Paraugu savākšana: venozās asinis tika ņemtas pirms pētījuma, pēc deviņiem un 18 mēnešiem un tika noteikti šādi rādītāji – TAS, Se (tikai pētījuma sākuma), Cu, Zn-SOD un GPx aktivitātes, VE, MDA, 4-HNE un 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*”.

2.4. IV pētījuma dizains

Pētījums veikts 2010.–2012. g. un tajā bija atlasīti vīrieši, kuri saņēmuši mazas jonizējošā starojuma devas, strādājot ČAES avārijas seku likvidēšanā, un kuri bija ar / bez 2TCD komplikācijām. Izpētes grupas dalībnieku rādītāji tika salīdzināti salīdzināti ar tāda paša vecuma 2TCD slimnieku un veselo vīriešu rādītājiem.

Pētījuma grupu raksturojums un sadalījums

Grupās identifikācija	Grupas pazīmes	Vecums, gados	Vidējais slimības ilgums, gados
2TCD (N = 36)	2TCD pacienti	61,2 ± 10,6	10,5 ± 7,5
2TCD + JS (N = 28)	ČAES avārijas seku likvidētāji ar 2TCD	63,7 ± 8,3	9,5 ± 5,2
JS (N = 40)	ČAES avārijas seku likvidētāji bez 2TCD	62,3 ± 6,5	10,5 ± 4,2
K (N = 30)	Veseli vīrieši	61,8 ± 11,7	11,5 ± 8,0

Izslēgšanas faktori: ČAES avārijas seku likvidētājiem – analogi I pētījumam, 2TCD pacientiem – analogi III pētījumam.

Paraugu vākšana: 2TCD pacienti atlasīti no III pētījuma, 2TCD + JS un JS grupu pētījumu dalībniekiem asinis ņemtas P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centrā, K – dažādi. Tika noteikti šādi rādītāji: Cu, Zn-SOD un GPx aktivitātes, TAS, Se, MDA, 4-HNE un proteīnkarbonili (PK).

Finansiālais atbalsts: RSU Doktoru studiju grants.

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). *Randox laboratories, Ltd.* (AK) tika veiktas šādas analīzes: CEA, kopējais PSA, brīvais PSA.

2.5. 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 Frīdmena (*Friedman*) tests.

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

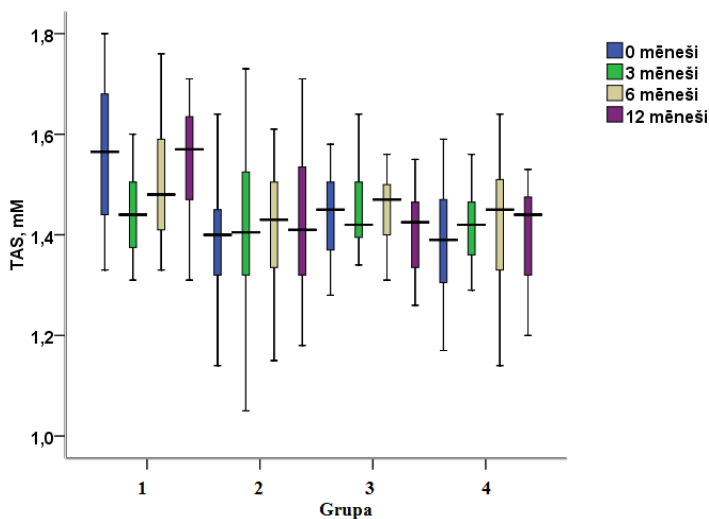
Statistiskie aprēķini un attēlu izveide tika veikta datorprogrammā IBM SPSS 20.0 un MS Excel.

3. GALVENIE REZULTĀTI UN DISKUSIJA

3.1. I pētījums

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

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



3.1.att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz totālā antioksidantu statusa (TAS) daudzuma izmaiņām

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

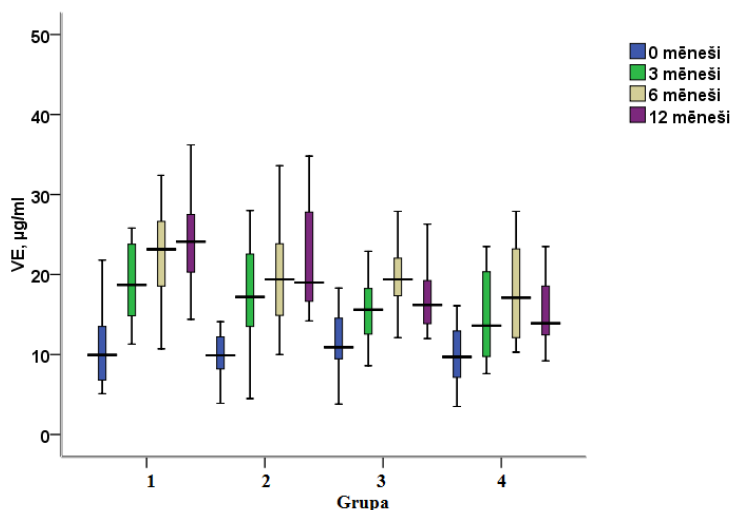
VE + Se grupā TAS daudzums statistiski ticami samazinājās 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu (0 mēn.), – no 1,57 (0,24) līdz 1,44 (0,14) mM ($p = 0,003$). Pēc tam TAS daudzums, salīdzinot ar 3. mēn., statistiski ticami

paaugstinājās 6. mēn. līdz 1,48 (0,19) mM ($p = 0,03$) un 12. mēn. līdz 1,57 (0,18) mM ($p = 0,013$).

Pētījuma sākumā un beigās TAS daudzums VE + Se gr., salīdzinot ar pārējām grupām, bija statistiski ticami augstāks. Pētījuma 6. mēn. TAS daudzums bija statistiski ticami ($p = 0,049$) augstāks nekā VE + Se + IBF 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 statistiski ticamas izmaiņas netika konstatētas.

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% ($p < 0,001$).

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. ($p < 0,001$).

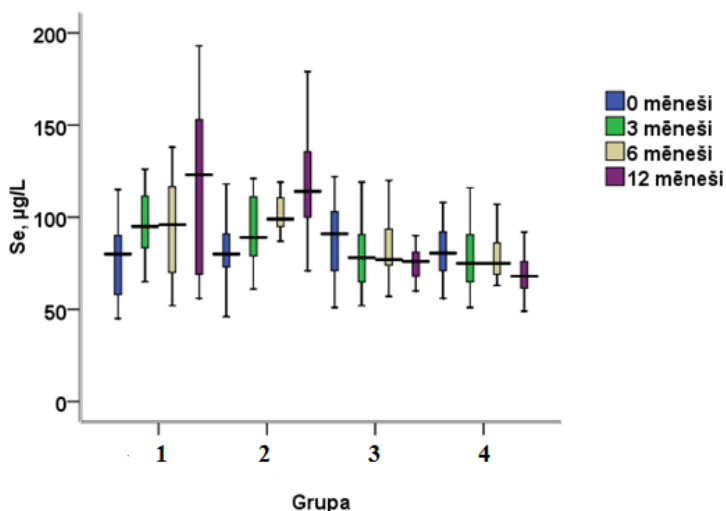
IBF grupā VE daudzums statistiski ticami pieauga 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, no 10,9 (5,4) līdz 15,6 (6,7) µg/ml, t. i., par 56 % ($p = 0,001$) un 6. mēn. – līdz 19,4 (5,2) µg/ml, t. i., par 78% ($p < 0,001$). Pētījuma beigās VE daudzums statistiski ticami samazinājās, salīdzinot ar 6. mēn., 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.

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% ($p = 0,002$).

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) $\mu\text{g/L}$ 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).



3.3.att. Selēna, 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.

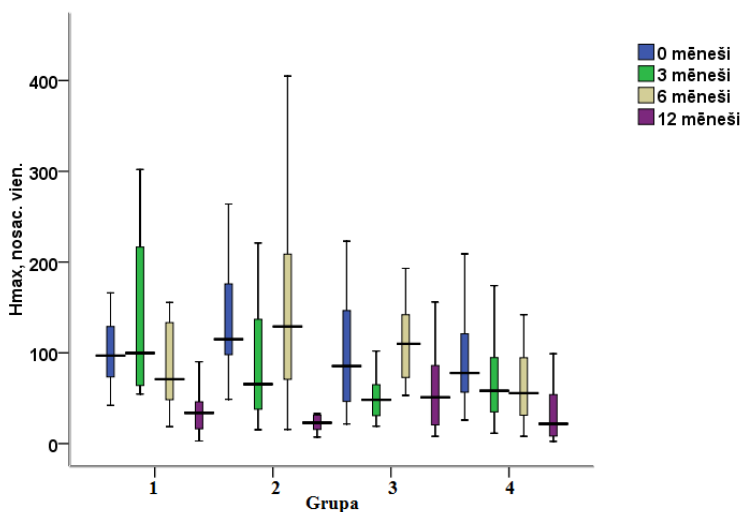
VE + Se + IBF gr. Se daudzums, salīdzinot ar sākuma posmu, 3. mēn. pieauga statistiski tuvu ticamam no 80 (19) līdz 89 (33) $\mu\text{g/L}$, t. i., par 11,25% ($p = 0,051$), bet statistiski ticami 6. mēn. līdz 99 (17) $\mu\text{g/L}$, t. i., par 23,75% ($p = 0,003$) un 12. mēn. līdz 114 (40) $\mu\text{g/L}$,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

IBF gr. Se daudzums tuvu statistiski ticamam samazinājās 12. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu, no 91 (35) līdz 76 (15) $\mu\text{g/L}$, t. i., par 16,4% ($p = 0,093$).

Placebo gr. Se daudzums, salīdzinot ar 0 mēn., statistiski ticami samazinājās 12. mēn. no 80,5 (24) līdz 68 (17) $\mu\text{g/L}$, t. i., par 15,5% ($p = 0,007$).

Lipīdu peroksīdu daudzuma H_{maks} izmaiņu rezultāti attēloti 3.4. attēlā.

VE + Se grupā H_{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_{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 daudzumu
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., $H_{maks.}$ nozīmīgi palielinājās 6. mēn. ($p = 0,008$), bet salīdzinot ar VE + Se gr., $H_{maks.}$ bija statistiski ticami zemāks 3. mēn. ($p = 0,022$). Pētījuma beigās, salīdzinot VE + Se + IBF gr. ar IBF gr., 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. ($p = 0,043$).

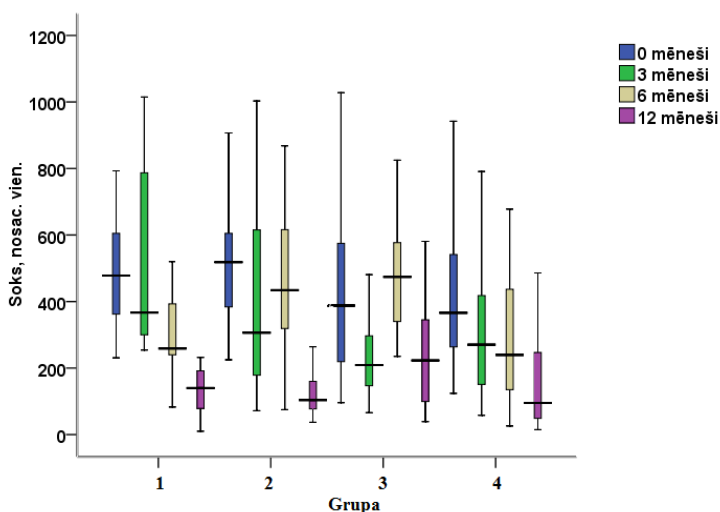
Plazmas kopējās oksidējamības spējas $S_{oks.}$ daudzuma izmaiņas attēlotas 3.5. attēlā.

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} . statistiski ticami ($p < 0,001$) samazinājās visa pētījuma laikā, salīdzinot ar sākuma posmu: 519 (260) – 307 (452) – 434 (344) – 104 (94) nosac.vien.

IBF gr., salīdzinot ar 0 mēn. 388 (375) nosac.vien., S_{oks} . statistiski ticami samazinājās 3. mēn. – 209 (155) nosac. vien., t. i., 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.

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. ($p = 0,001$).



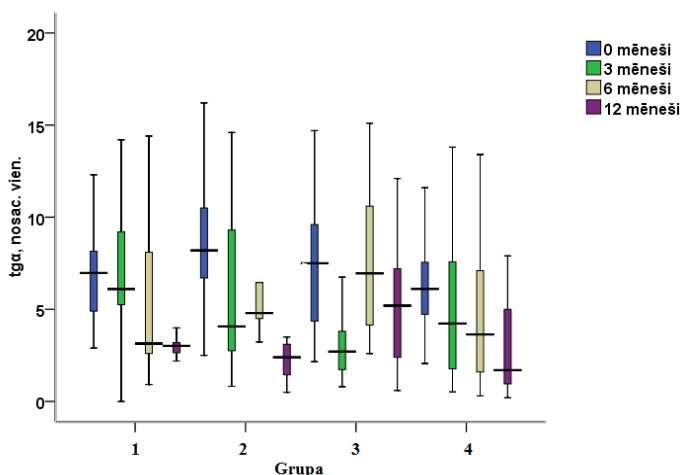
3.5. att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz hemiluminiscences rādītāja S_{oks} . jeb plazmas kopējo oksidējamību
1 – VE + Se gr., 2 – VE + Se + IBF gr., 3 – IBF gr., 4 – Placebo gr.

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

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 ($p = 0,001$).

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. ($p = 0,006$). 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 ($p = 0,047$).



3.6.att. Selēna, E vitamīna un ibuprofēna lietošanas ietekme uz hemiluminescences rādītāja tga jeb lipīdu peroksidācijas ātrumu

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

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).

1.1. tabula

TBS_MDA (μM) daudzuma izmaiņas

Grupa	0 mēn.	3. mēn.	6. mēn.	12. mēn.
Placebo (N = 20)	2,99 (0,68)	2,67 (0,64)	2,80 (0,61)	2,61 (0,43) * p = 0,014
IBF (N = 20)	3,20 (0,92)	3,04 (0,75) p = 0,074	2,82 (0,74)	3,12 (0,55)
VE + Se (N = 16)	3,23 (0,89)	2,83 (0,72)	2,93 (0,67)	2,99 (0,55) * p = 0,030
VE + Se + IBF (N = 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, salīdzinot ar 0 mēn. + Statistiski ticami atšķiras, salīdzinot ar 6. mēn. N – dalībnieku skaits

3.2. tabula

Onkomarkieru daudzumu statistiski ticamās 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) p = 0,070	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
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
	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 = 0,020

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). * Statistiski ticami atšķiras, salīdzinot ar 0 mēn.; N – dalībnieku skaits

Placebo gr. TAS (3. mēn.) un VE (3. un 6. mēn.) daudzuma pieaugumam sekoja visu LPO rādītāju samazināšanās (12. mēn.). 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 un VE rezervju izsīkšana varētu būt pamats tālākai OS attīstībai, par ko liecināja vidēji cieša negatīva korelācija starp Se un lipīdu peroksidācijas ātrumu $t_{6mēnēs}$ ($r_s = -0,487$, $p = 0,040$).

Izvērtējot onkomarķieru rādītājus *Placebo* grupā, tika konstatēts, ka, lai gan LPO rādītāji samazinājās, CEA, PSA un brīvā PSA daudzums statistiski ticami pieauga (3.2. tabula). Korelatīvā analīze parādīja, ka 0 mēn. starp onkomarķieri PSA un LPO rādītājiem – $H_{maks.}$ un $S_{oks.}$ – pastāvēja korelatīva saistība ($r_s = 0,588$, $p = 0,035$; $r_s = 0,483$, $p = 0,031$), bet 3. mēn. saglabājās korelatīvā saistība ar plazmas kopējo oksidējamību – $S_{oks.}$ ($r_s = 0,487$, $p = 0,048$). 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, tika 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 ($t_{6mēnēs}$) 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.

Pirmajos trīs pētījuma mēnešos tika konstatēta korelācija starp TAS un TBS_MDA ($r_s = 0,629$, $p = 0,012$) un varētu pieņemt, ka kopējie antioksidanti maksimāli tika izmantoti ASF neitralizēšanai pirms tās “uzbrukušas” šūnu membrānām. E vitamīna un Se papildus lietošana sekmēja TAS pieaugumu turpmākajā pētījuma posmā, līdztekus panākot lipīdu peroksidācijas ātruma ($t_{6mēnēs}$) 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 un lipīdu hidroperoksīdu ($H_{maks.}$) samazināšanos laika posmā no 6. mēn. līdz 12. mēn. Korelatīvā saistība starp VE un Se pastāvēja pētījuma 12. mēnesī ($r_s = 0,506$, $p = 0,038$), kad bija konstatēta statistiski ticama Se palielināšanās plazmā. Zināms, ka klastogēno faktoru veidošanās ir pastarpināta un saistīta ar superoksīdanjoniem un to darbības mehānismiem un ka VE spēj nomākt NADPH-oksīdāzes un ksantīnoksīdāzes un līdz ar to – paša superoksīdanjona radikāļa veidošanos. Aktīvās skābekļa formas, kuras veidojas NADPH-oksīdāzes klātbūtnē, ir ierosinātais COX-2 ekspresijai, kas savukārt sekmē vēža attīstību [Harris *et al.*, 2005]. Onkomarķieri PSA un CEA pētījuma laikā nav mainījušies un paliek normas robežās, kas ļauj secināt, ka 12 mēn. laikā, lietojot VE + Se, nav bijis riska saslimstības provocēšanai. Tādējādi arī VE var netieši, līdzīgi kā tas notiek Se darbības gaitā, regulēt enzīma COX darbību. Pēc literatūras datiem secināms, ka Se, aktivējot 5' adenozinmonofosfāta aktivēto proteīnkināzi (šūnas enerģijas homeostāzes nodrošinātāju) caur COX-2 / prostaglandīna E_2 signālsistēmu, samazina COX-2 ekspresiju, [Hwang *et al.*, 2006]. Tādējādi, šā pētījuma grupā AO aizsardzību varētu izskaidrot, nevis ar tiešu COX-2 inhibēšanu, bet ar superoksīda radikāļu veidošanās samazināšanos un membrānstabilizējošo efektu. Pētījuma beigās konstatētās korelācijas starp antioksidatīvo rādītāju TAS un prooksidantu rādītājiem – tga ($r_s = 0,715$; $p = 0,003$) un TBS_MDA ($r_s = 0,707$, $p = 0,002$) – liecina par OS saglabāšanos organismā.

Ibuprofēna kā monopreparāta lietošanas periodā konstatētas viņņveida izmaiņas visos noteiktajos rādītājos. Kad IBF bija lietots pirmos trīs mēnešus, 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. Nākamajā pētījuma posmā, t. i., 6. mēn. šie rādītāji ticami paaugstinājās, un 12. mēn. tiem bija tendence samazināties. Pieļaujam, ka

Černobiļas AES avārijas seku 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. Korelatīvajā analizē tika konstatēts, ka 3. mēn. pastāv vidēji cieša pozitīvā korelācija starp VE un TBS_MDA ($r_s = 0,506$, $p = 0,027$), kā arī VE ar Se ($r_s = 0,563$, $p = 0,009$), kas pamato to sinerģistisko sadarbību. Selēna samazināšanās pētījuma beigās ietekmēja GPx aktivitāti un tādējādi veicināja lipīdu hidroperoksīdu līmeņa ($H_{maks.}$) paaugstināšanos IBF grupā. Par Se nozīmi LPO – tāpat kā *Placebo* gr. – liecina konstatētā vidēji cieša negatīvā korelācija 6. mēn. starp Se un lipīdu peroksidācijas ātrumu ($tg\alpha$) ($r_s = -0,525$, $p = 0,037$). Tāpat kā *Placebo* gr., tā arī IBF gr. 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.

IBF gr. 12. mēn. tika konstatēts, ka, salīdzinot ar sākuma periodu, būtiski pieauga onkomarķiera CEA daudzums, kuram bija vidēji cieša pozitīva korelācija ar pieaugošo TBS_MDA daudzumu ($r_s = 0,643$, $p = 0,034$).

Korelācijas analīze parādīja, ka pētījuma beigās IBF gr. pastāvēja cieša negatīvā korelācija starp TAS un LPO rādītājiem – $S_{oks.}$ ($r_s = -0,704$, $p = 0,003$) un $tg\alpha$ ($r_s = -0,755$, $p = 0,001$). Acīmredzot, esošais TAS līmenis ir nepietiekošs, lai mazinātu LPO rādītājus.

Ibuprofēna kā monopreparāta lietošana neietekmēja TBS_MDA daudzumu, turpretī grupās, kurās tas tika izmantots 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 rādītāju 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. tika konstatēts, ka starp Se un VE pastāv pozitīva vidēji cieša ($r_s = 0,534$, $p = 0,021$) 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 – $H_{maks.}$, $S_{oks.}$ un $tg\alpha$, tad 6. un 12. mēn. korelācija ar LPO rādītāju TBS_MDA bija pozitīva ($r_s = 0,724$, $p < 0,01$). Iespējams, ka LPO rādītāju pieaugums 6. mēn. kā atbildes reakciju ierosināja 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 tika konstatēta VE + Se gr. 12. mēn., bet VE + Se + IBF gr. jau 6. mēnesī.

3.2. tabulā redzams, ka onkomarkķieri statistiski ticami palielinājās 12 mēnešu laikā pētījuma grupās, kurās nelietoja AO, turklāt *Placebo* gr. palielinājās CEA, PSA un brīvais PSA, bet IBF gr. – CEA onkomarkķieris.

VE + Se + IBF gr. netika konstatētas izmaiņas onkomarkķieru 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 onkomarkķieru izmaiņas starp grupām, tad visefektīvāk darbojas IBF kombinētā lietošana ar VE+Se, jo šajā grupā netika konstatētas statistiski ticamas onkomarkķieru 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.

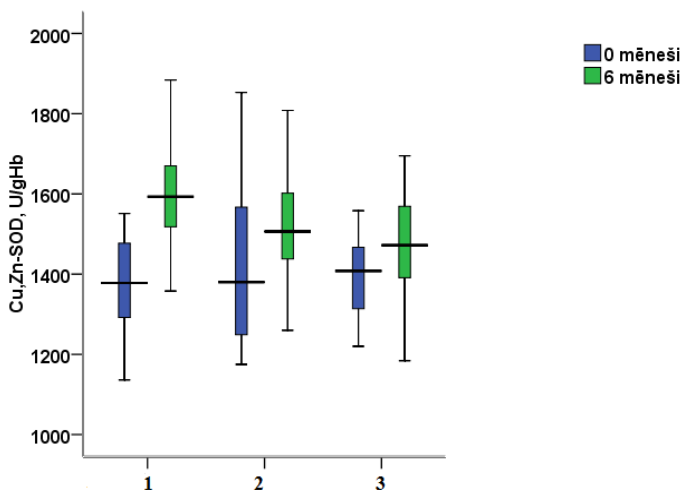
Lai gan LPO rādītāji VE + Se un VE + Se + IBF gr. pētījuma beigās mazinājās, tomēr tika konstatēta pozitīva korelācija starp antioksidantiem un prooksidantiem, t. i., VE + Se gr. 0, 3., 12. mēn., bet VE + Se + IBF gr. 6. un 12. mēn. norāda, ka pastāv OS spriedze. Acīmredzot AO spēja tikai kavēt, bet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

3.2. II pētījums

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.7. attēlā.

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 grupā 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 ($p = 0,048$).



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

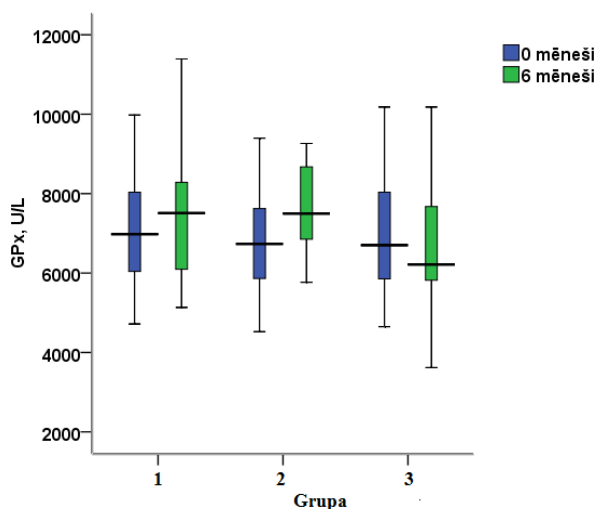
1 – Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr., 2 – Se + KoQ₁₀ gr., 3 – KoQ₁₀ + IBF + Om gr.

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

Glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.8. attēlā.

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



3.8.att. **Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz glutathionperoksidāzes (GPx) aktivitāti**

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

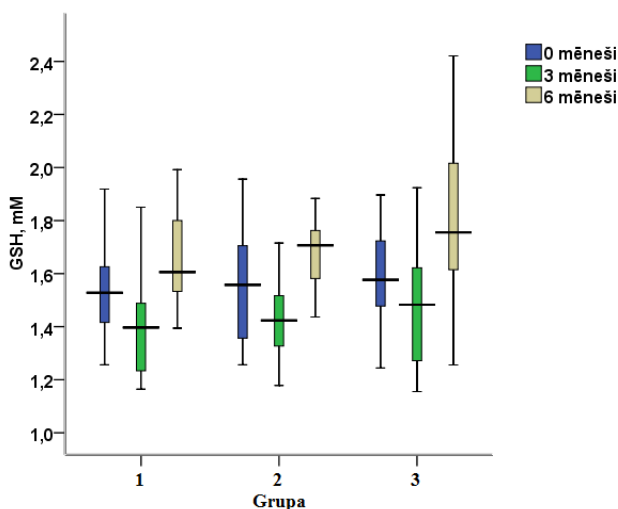
Pārējās grupās GPx aktivitātei bija tendence palielināties. KoQ₁₀ + IBF + Om gr. GPx aktivitāte 6. mēn. bija tuvu statistiski ticamam ($p = 0,072$) zemāka nekā Se + KoQ₁₀ gr.

Glutathiona daudzuma izmaiņas atainotas 3.9. 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 grupā 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).



3.9.att. Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz reducētā glutationa (GSH) daudzuma izmaiņām

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

Selēna daudzuma izmaiņas attēlotas 3.10. attēlā.

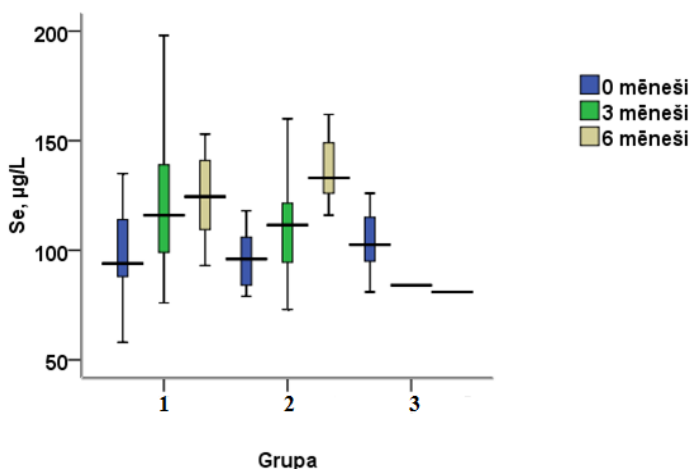
Se + KoQ₁₀ grupā Se daudzums statistiski ticami palielinājās, salīdzinot ar sākuma posmu, 3. mēn. par 16%, t. i., no 96,0 (24,0) līdz 111,5 (28,5) µg/L (p = 0,033) un 6. mēn. – par 38% , t. i., līdz 133,0 (27,0) µg/L (p = 0,008).

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 (343,8) µg/L (p = 0,011).

KoQ₁₀ + IBF + Om gr. Se daudzums statistiski ticami nemainījās.

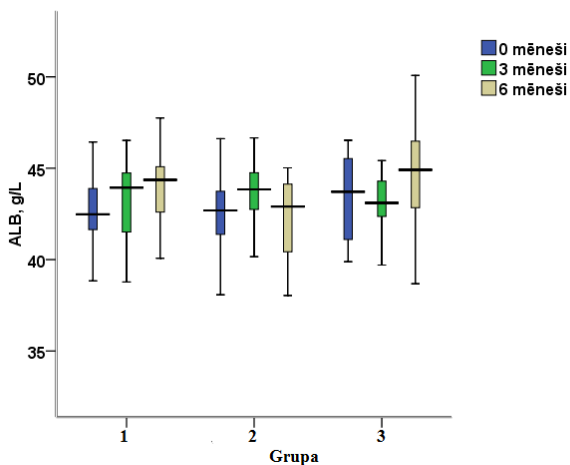
3.11. attēlā redzams, ka ALB daudzums statistiski ticami (p = 0,019) palielinājās 3. mēn. Se+ KoQ₁₀ gr. no 42,69 (2,47) līdz 43,84 (2,40) g/L, bet pētījuma beigās nebija konstatētas statistiski ticamas izmaiņas.

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).



3.10.att. **Selēna, koenzīma Q₁₀ un ibuprofēna lietošanas ietekme uz Se daudzuma izmaiņām**

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



3.11.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.

3.3. tabula

Malondialdehīda un 4-hidroksinonenāla daudzuma izmaiņas

Grupa	MDA (μM)			4-HNE (μM)		
	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 (5,0)	2,41 (3,64)
Se + KoQ ₁₀	21	1,80 (1,00)	1,85 (0,50)	15	4,62 (7,5)	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 (4,9)	2,40 (8,56)

Rezultāti attēloti kā mediānas (starpkvartīļu intervāls). * Statistiski ticami atšķiras, salīdzinot ar 0.mēnesi.

E vitamīna daudzums pētījuma laikā nemainījās un palika references lielumu robežās.

Karcinoembriālais antigēns (CEA) , Se + KoQ₁₀ gr statistiski ticami ($p = 0,037$) palielinājās 3. mēn., salīdzinot ar sākuma posmu. Statistiski ticamas izmaiņas nebija konstatētas PSA un brīvā PSA daudzumam.

Pētījuma sākumā tika konstatēts, ka starp AOS rādītājiem un LPO metabolītiem pastāv cieša pozitīva korelācija, kas liecina, ka atbildot uz OS palielināšanos, pieaug arī AO aizsardzība: Se + KoQ₁₀ + IBF + Om gr. VE ar MDA un MDA + 4-HNE ($r_s = 0,557$, $p = 0,004$; $r_s = 0,630$, $p = 0,021$); KoQ₁₀ + IBF + Om gr. starp ALB un 4-HNE ($r_s = 0,607$, $p = 0,008$). Se + KoQ₁₀ gr. pētījuma sākumā negatīvā korelācija starp AOS enzīmu Cu, Zn-SOD un vienu no LPO rādītājiem 4-HNE ($r_s = -0,633$, $p = 0,011$) liecina par superoksīdanjona lomu 4-HNE veidošanā.

Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās dalībnieku grupās, kurās KoQ₁₀ tika lietots kopā ar Se, varētu būt izskaidrojama divējādi: vai ar AOS aktivizēšanos (pateicoties Se tiek ierosināta Cu, Zn-SOD gēnu ekspresija), vai arī kā atbildes reakcija uz superoksīdanjona radikāļa pieaugumu organismā, kur tie veidojas flavīndehidrogenāžu un NAD-dehidrogenāžu katalizētās *red-oks* reakcijās – kā, piemēram, glutationreduktāze (GR).

Glutationreduktāzei 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. Selēns ir GPx integrālais komponents, par ko liecina pozitīvā korelācija ($r_s = 0,661$, $p = 0,004$) un nav pārsteigums, ka GPx aktivitātei bija tendence palielināties Se lietotāju grupās neatkarīgi no tā, vai IBF lietoja vai ne konkrētajā pētījuma grupā. Vienlaicīgi konstatēts, ka KoQ₁₀ + IBF + Om grupā, kurā netika lietots Se, GPx aktivitāte būtiski samazinājās, kas varētu būt sekas H₂O₂ palielināšanās tendencei un / vai sekojošai Cu, Zn-SOD aktivitātes nomākšanai, ja ir nepietiekama KAT darbība. Selēna un KoQ₁₀ 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.

Glutaciona 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. KoQ₁₀ + IBF + Om grupā 6. mēn. konstatētā korelācija starp Cu, Zn-SOD un GSH ($r_s = -0,592$; $p = 0,006$) liecina, ka GSH pieaugums ir kā kompensatoriskā atbilde uz Cu, Zn-SOD nepietiekamību šūnas aizsardzībai. Ja Se + KoQ₁₀ grupā, kurā netika lietots IBF, 3. mēn. starp GSH un PSA bija cieša pozitīva korelācija ($r_s = 0,556$, $p = 0,011$), tad KoQ₁₀ + IBF+Om grupā šī korelācija bija negatīva, kas saistīta ar GSH būtisku samazināšanos ($r_s = -0,470$, $p = 0,049$). Reducētā glutaciona daudzuma palielināšanos pētījuma beigās visās pētījuma grupās var nodrošināt GR, kā arī no ATP atkarīgās γ -glutamilsteīnsintetāze un glutationsintāze. 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 tas ir energoatkarīgs process. Pētījuma rezultāti parādīja, ka VE daudzums nemainījās un bija saglabāts pietiekoši augstā līmenī visās pētījuma grupās, iespējams, pateicoties KoQ₁₀. Zināms, ka KoQ₁₀ ir sinerģists VE, tas ne tikai pasargā VE no superoksīda izraisītās oksidēšanās, bet arī reģenerē VE antioksidatīvajā procesā. Ja Se + KoQ₁₀ grupā sākuma posmā starp Se un VE bija negatīva korelācija ($r_s = -0,571$, $p = 0,017$), tad pētījuma beigās pēc Se un KoQ₁₀ lietošanas šī korelācija bija pozitīva ($r_s = 0,603$, $p = 0,050$), kas varētu būt saistīta ar VE reģenerāciju, pateicoties gan KoQ₁₀, gan GSH. Reducētais glutations piedalās VE reģenerācijā, izmantojot askorbīnskābi, par ko liecina

konstatētā pozitīvā korelācija 6. mēn. starp GSH un VE KoQ₁₀+IBF+Om grupā ($r_s = 0,451$, $p = 0,046$).

3.3. tabulā redzams, ka pēc 6 mēn. MDA samazinājums bija novērojams tajās pētījuma grupās, kurās IBF lietoja kompleksā ar antioksidantiem. Kaut arī Se tiek iedalīts t. s. otrējo AO grupā, analizējot kvantitatīvās MDA izmaiņas Se + KoQ₁₀ grupā šādas izmaiņas nenovērojām, 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 I pētījumā grupā, kurā tika lietoti tikai antioksidanti (VE + Se), pēc 6 mēn. ilga kursa MDA mazināšanās netika konstatēta, tā izpaudās 12. mēnesī. 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 kur 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, kurš 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, konstatētas izmaiņas pretējas atklātajām par MDA. Būtiski 4-HNE samazinājās Se + KoQ₁₀ grupā, ko varētu daļēji izskaidrot ar ALB pieaugumu šajā grupā jau 3.mēnesī. Pētījuma dalībnieku grupās, kurās lietoja IBF, ALB pieaugums bija tuvu statistiski ticamam, maksimumu sasniedzot 6. mēnesī, tāpat paralēli bija konstatēts tuvu statistiski ticamam arī 4-HNE daudzuma samazinājums.

Pēc literatūras datiem zināms, ka bez COX-1, COX-2 un 5-lipoksigenāzes inhibēšanas spējām, IBF var palielināt 15-lipoksigenāzes aktivitāti [Rainsford, 2003], bet tā ir saistīta ar 4-HNE enzimatisko veidošanos

no arahidonskābes. 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 brPSA – nemainījās, izņemot Se + KoQ₁₀ gr. 3. mēn. tika konstatēta statistiski ticama CEA daudzuma palielināšanās, kas nepārsniedza noteiktos references intervālus (ne > 2,5 ng/ml). Tā kā šīs izmaiņas bija references vērtību robežās, mēs nevaram 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.

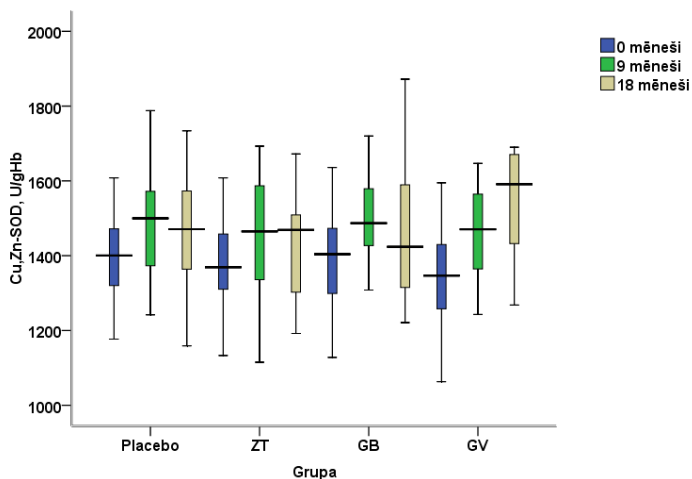
3.3. III pētījums

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas pētījuma grupās atainotas 3.12. attēlā.

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

Pētījuma beigās, t. i., 18. mēn., salīdzinot ar sākumu, Cu, Zn-SOD aktivitāte statistiski ticami palielinājās *Placebo* gr. no 1401 (166) līdz

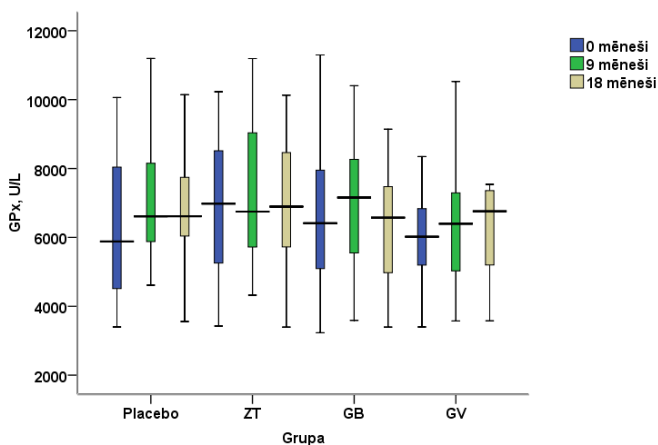
1471 (239) U/gHb ($p = 0,042$) un GV gr. no 1347 (186) līdz 1591 (263) U/gHb ($p = 0,003$).



3.12.att. Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas pēc zaļās tējas, *Ginkgo biloba* un *Grinvitals Cereloba® plus* preparātu lietošanas

Glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.13. attēlā.

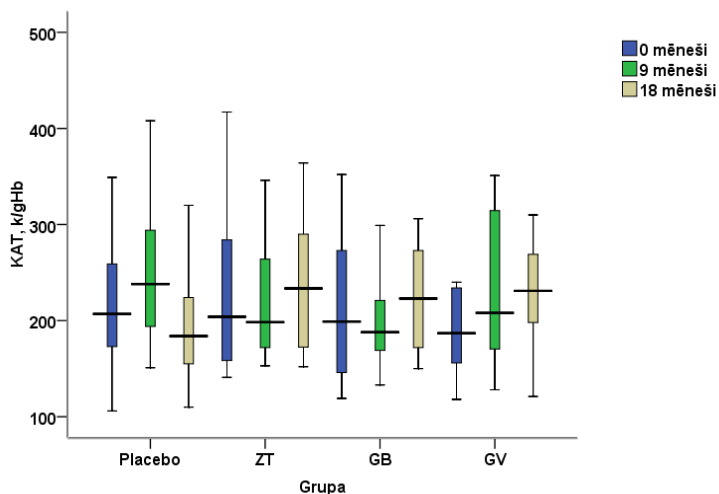
Statistiski ticami GPx aktivitāte pieauga tikai *Placebo* gr. līdz 9. mēn. par 12,4%, t. i., no 5881 (3620) līdz 6609 (2522) U/L ($p = 0,045$) un palika tādā pašā līmenī līdz pētījuma beigām.



3.13. att. **Glutationperoksidāzes (GPx) aktivitātes izmaiņas pēc zaļās tējas, *Ginkgo biloba* un *Grinvitals Cereloba® plus* preparātu lietošanas**

Katalāzes aktivitātes izmaiņas atainotas 3.14. attēlā.

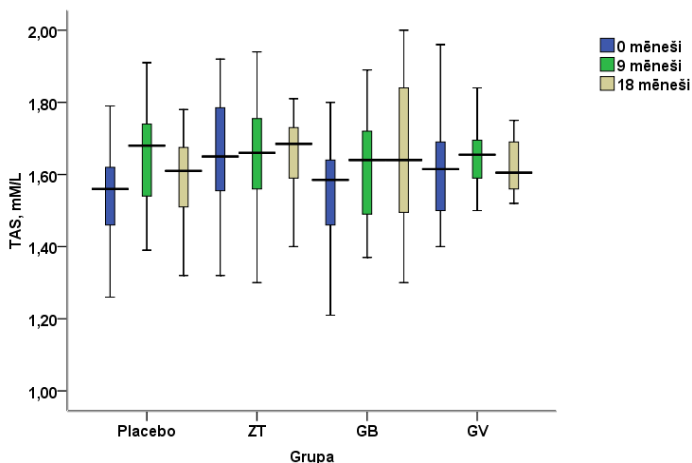
Statistiski ticamas atšķirības KAT aktivitātei konstatētas 18. mēn., salīdzinot ar 9. mēn.: *Placebo* gr. KAT samazinājās no 238 (106) līdz 184 (75) k/gHb ($p = 0,025$), bet GB grupai palielinājās no 188 (61) līdz 223 (102) k/gHb ($p = 0,022$). Salīdzinot KAT aktivitātes izmaiņas *Placebo* gr. ar pārējām grupām, konstatēts, ka 9. mēn. statistiski ticamas atšķirības bija GB gr. ($p = 0,023$).



3.14. att. Katalāzes (KAT) aktivitātes izmaiņas pēc zaļās tējas, *Ginkgo bioloba* un *Grinvitals Cereloba® plus* preparātu lietošanas

Totālā antioksidantu statusa daudzuma izmaiņas atspoguļotas 3.15. attēlā.

Totālais antioksidantu statusa daudzums statistiski ticami pieauga tikai *Placebo* gr. līdz 9. mēn. – 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.



3.15. att. **Totālā antioksidatīvā statusa (TAS) daudzuma izmaiņas pēc zaļās tējas, *Ginkgo biloba* un *Grinvitals Cereloba® plus* preparātu lietošanas**

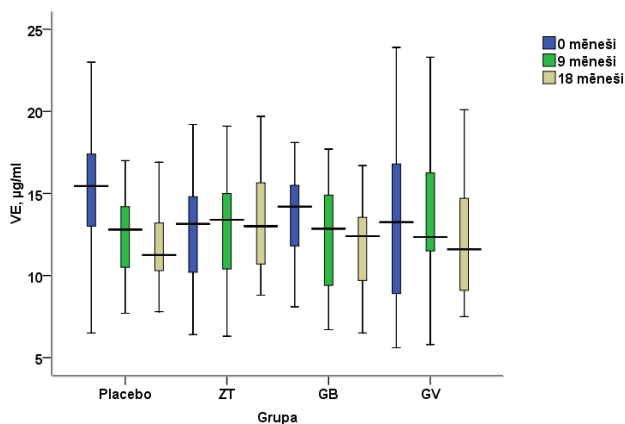
E vitamīna daudzuma izmaiņas attēlotas 3.16. attēlā.

Placebo gr. VE daudzums statistiski ticami samazinājās visa pētījuma laikā, salīdzinot ar sākuma periodu: 9. mēn. no 15,45 (4,60) līdz 12,80 (4,40) $\mu\text{g/ml}$ ($p = 0,004$) un 18. mēn. līdz 11,25 (3,23) $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,001$). Pētījuma beigās VE daudzums, salīdzinot ar 9. mēn., statistiski ticami samazinājās no 12,80 (4,40) līdz 11,25 (3,23) $\mu\text{g/ml}$ ($p = 0,037$).

GB gr. VE daudzums statistiski ticami samazinājās 9. mēn., salīdzinot ar sākuma periodu, – no 14,20 (4,10) līdz 12,90 (5,70) $\mu\text{g/ml}$ ($p = 0,037$) un saglabājās tādā pašā līmenī līdz pētījuma beigām.

GV gr. VE daudzums statistiski ticami samazinājās 18. mēn., salīdzinot ar 9. mēn., – no 12,35 (5,38) līdz 11,60 (6,20) $\mu\text{g / ml}$ ($p = 0,047$).

ZT gr. VE daudzums nemainījās.



3.16. att. E vitamīna (VE) daudzuma izmaiņas pēc zaļās tējas, *Ginkgo biolobas* un *Grinvitals Cereloba® plus* preparātu lietošanas

3.4. tabula

Lipīdu peroksidācijas rādītāju statistiski ticamu izmaiņu dinamika 2TCD pacientiem pēc ZT, GB un GV ilgstošas lietošanas dažādās devās

Rādītājs	Gr.	0 mēn.	N	9. mēn.	N	p	18. mēn.	N	p
LOOH µM	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
MDA µM	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	GB	4,73(3,64)	21	4,32(3,94)	26	0,064	2,77(4,02)*	19	0,011

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

Zaļās tējas standartizētais lapu ekstrakts visefektīvāk papildu standartterapijai darbojās, lietojot to 400 mg dienā, laika posmā līdz 9. mēnesim. 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]. 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. Pētījuma dati apliecina, ka 9. mēn. MDA daudzums statistiski ticami samazinājās, bet 4-HNE daudzumam bija tendence samazināties un 18. mēn. pieaugt. Konstatētā korelācija starp GPx un LOOH pētījuma sākumā ($r_s = -0,469$, $p = 0,037$) un beigās ($r_s = -0,824$, $p < 0,001$) liecina par šā enzīma lomu nepietiekošā LPO kavēšanā abos tā posmos. Vidēji cieša negatīva korelācija 9. mēn. konstatēta TAS ar 4-HNE un MDA + 4-HNE ($r_s = -0,515$, $p = 0,029$; $r_s = -0,645$, $p = 0,005$), kas apliecina, ka, lai kavētu 4-HNE veidošanos šūnās jābūt pietiekošam ūdenī šķīstošo antioksidantu daudzumam, (to skaitā – GSH), kuri spēj ietekmēt LPO procesa iniciāciju. 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 (kvercetīns, kemferols, izoramnetīns) un 4,8 mg terpēnlaktonus (ginkolīdi, bilobalīdi), konstatēts nozīmīgs OS rādītāju – LOOH samazinājums 9. mēn., bet MDA un 4-HNE – 18. mēn. 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 galaproduktu (MDA, 4-HNE) veidošanos. Konstatētā korelācija 9. mēn. starp Cu, Zn-SOD un LOOH liecina, ka, pieaugot enzīma aktivitātei, pilnvērtīgāka kļūst superoksīdanjonu dismutācija un līdz ar to samazinās LPO ($r_s = -0,419$, $p = 0,033$). 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. Lipīdu hidroperoksīdu samazinājums, iespējams, saistīts arī ar GPx aktivēšanos, lai gan tās paaugstināšanās nebija statistiski ticama, šeit varētu runāt par stabilu pieauguma tendenci, kā arī par endogēnā VE izmantošanu. Statistiski ticami GPx palielinājās 9. mēn. vien 2TCD pacientiem, kuriem nebija konstatēts Se deficīts. Lipīdu hidroperoksīdu sadalīšanā varēja piedalīties Se neatkarīgā GPx, t. i., GST. Ņemot 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 autooksidēšanos dēļ un palielināt Mth “oksidatīvo (elpošanas) sprādzienu”. Pētījumā tika 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., kas 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 bija pozitīvas vidēji ciešas korelatīvas saistības ar LPO rādītājiem – pētījuma sākumā ar MDA + 4-HNE ($r_s = 0,459$, $p = 0,021$) un pētījuma beigās ar 4-HNE ($r_s = 0,556$, $p = 0,017$). Iespējams, ka LPO metabolīti inducē KAT gēnu ekspresiju un tādējādi ataino šūnas adaptīvo atbildi uz OS. 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 grupas pacientus ar *Placebo* grupu, kuri saņēma standartterapiju, konstatēta nozīmīga samazināšanās 9. mēn. KAT ($p = 0,023$), LOOH daudzumam ($p = 0,008$) un tuvu statistiski ticamam arī 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. 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 aktivitāciju un MDA daudzuma samazināšanos 9. mēn., kas palika tādā pašā līmenī arī 18. mēnesī.

Atšķirības Cu, Zn-SOD aktivitātē konstatētas, salīdzinot to ar Se līmeni plazmā. Cu, Zn-SOD aktivitāte GV grupā 9. mēn. bija statistiski ticami zemāka, kad Se daudzums bija virs 80 µg/L, salīdzinot ar *Placebo* un GB grupu (attiecīgi, $p = 0,039$ un $p = 0,006$). Toties pētījuma beigās GV gr. Cu, Zn-SOD aktivitāte bija statistiski ticami augstāka pacientiem, kuriem Se daudzums bija zem 80 µg/L, salīdzinot ar ZT ($p = 0,015$), GB ($p = 0,027$) un *Placebo* ($p = 0,013$) grupu. Cu, Zn-SOD aktivitātes palielināšanās pētījuma beigās, iespējams, ir kompensatoriskā atbilde uz pieaugošo Se deficītu, jo pētījuma sākumā tika konstatēts, ka GV grupā 72,2 % 2TCD pacientiem Se daudzums plazmā bija zemāks par normu. Pētījuma sākumā konstatēta vidēji cieša negatīva korelācija starp Cu, Zn-SOD un MDA ($r_s = -0,484$, $p = 0,042$), kas liecina par superoksīda radikāļu iesaisti MDA veidošanā. Korelācija MDA ar VE ($r_s = 0,476$, $p = 0,046$) liecina, ka tiek izmantotas endogēnās VE rezerves LPO kavēšanai kā atbilde uz OS.

Placebo grupā 2TCD pacientiem, kuri saņēma standartterapiju – metformīnu un insulīnu –, 9. mēn. konstatēta nozīmīga Cu, Zn-SOD, GPx aktivitātes un TAS daudzuma palielināšanās un vienlaicīgi – VE samazināšanās, bet savukārt 18. mēn. – nozīmīga Cu, Zn-SOD aktivitātes

palielināšanās, bet KAT aktivitātes un VE daudzuma samazināšanās. Atšķirībā no pārējām grupām, *Placebo* gr. nebija konstatētas nozīmīgas LPO metabolītu izmaiņas. *Placebo* gr. 65,4% 2TCD pacientu Se saturs bija zemāks par normu. Konstatētas negatīvās korelācijas Se ar LOOH un MDA + 4-HNE liecināja par Se lomu LPO procesā ($r_s = -0,485$, $p = 0,012$; $r_s = -0,459$, $p = 0,036$), jo, būdams GPx integrālais komponents, tas veicina GPx aktivitātes paaugstināšanos. 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. Salīdzinot 2TCD pacientus pēc Se daudzuma plazmā, tika konstatēts, ka 9. mēn. pacientiem, kuriem Se bija normas robežās, LOOH saturs bija mazāks ($p = 0,022$). Pētījuma sākumā pozitīvā korelācija ($r_s = 0,458$, $p = 0,019$) starp KAT un LOOH liecina, ka, pieaugot LPO procesam, pieaug arī AOS antiperoksdatīva 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 negatīva vidēji cieša korelācija starp abiem rādītājiem ($r_s = -0,411$; $p = 0,037$). Glutationperoksīdāzes aktivitātes un TAS daudzuma palielināšanos 9. mēn. varētu izskaidrot ar adaptīvo atbildi uz OS, par ko liecināja vidēji cieša pozitīva korelācija starp antioksidantiem un prooksidantiem: starp GPx un 4-HNE ($r_s = 0,438$; $p = 0,037$) un starp TAS un MDA ($r_s = 0,434$; $p = 0,030$). Pētījuma 9. un 18. mēn. bija pozitīvas korelatīvas saistības starp lipofilo AO – VE un hidrofilajiem AO – TAS.

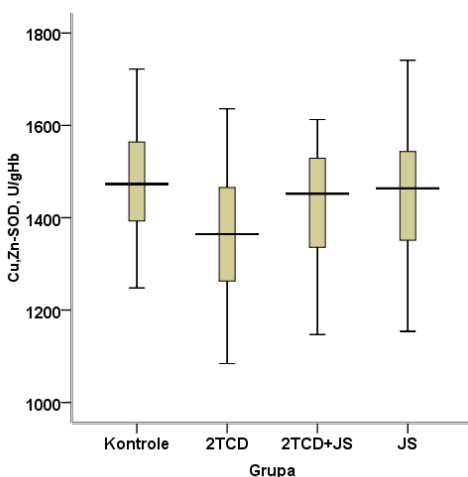
Salīdzinot dažādo preparātu ilgstošas lietošanas efektivitāti uz *red-oks* statusa modulēšanu, lielāku efektivitāti izrādīja GB, jo nozīmīgi samazinājās LOOH 9. mēn., kam sekoja gan MDA, gan 4-HNE samazināšanās 18. mēnesī. Jāņem vērā, ka pētījums veikts ar vecāka gada gājuma 2TCD pacientiem, kuriem ir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

neļāva sagaidīt ievērojami lielākas pozitīvas izmaiņas OS samazināšanās 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.

3.4. IV pētījums

Cu, Zn-SOD aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.17.attēlā.

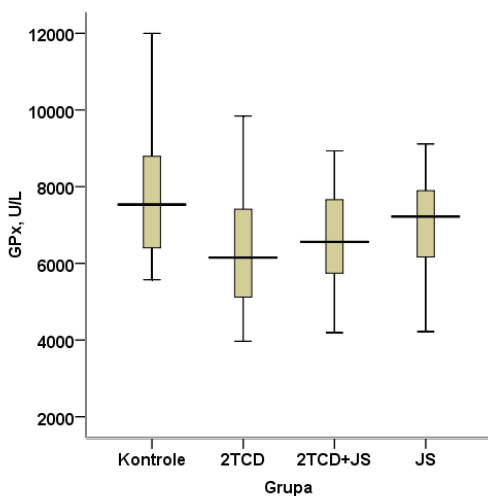


3.17.att. Cu, Zn-SOD aktivitāte

Statistiski ticamas atšķirības Cu, Zn-SOD aktivitātei bija pacientiem 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 grupā, t. i., personām, kuras bija pakļautas JS, šī enzīma aktivitāte palika kontroles grupas līmenī.

Glutationperoksidāzes aktivitātes izmaiņas attēlotas 3.18. attēlā.



3.18.att. Glutationperoksidāzes aktivitāte

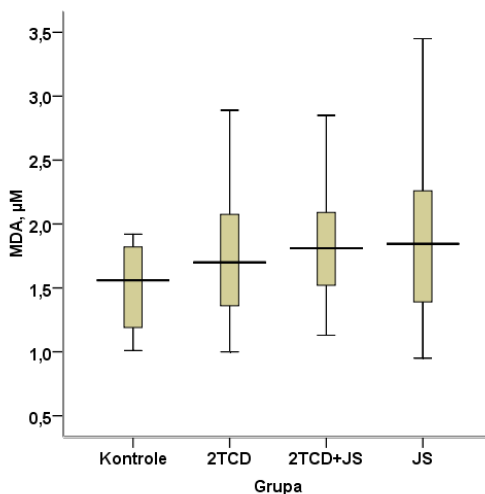
Statistiski ticamas atšķirības GPx aktivitātei konstatētas ar diabētu saistītās grupās (3.43. attēls). Salīdzinot ar kontroles grupā noteikto GPx aktivitāti, t. i., 7533 (2546) U/L, tā 2TCD grupā bija zemāka par 18%, t. i., 6151 (2349) U/L ($p = 0,002$) un 2TCD + JS grupā – par 13%, t. i., 6558 (2124)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

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

Malondialdehīda daudzuma izmaiņas attēlotas 3.19. 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 .

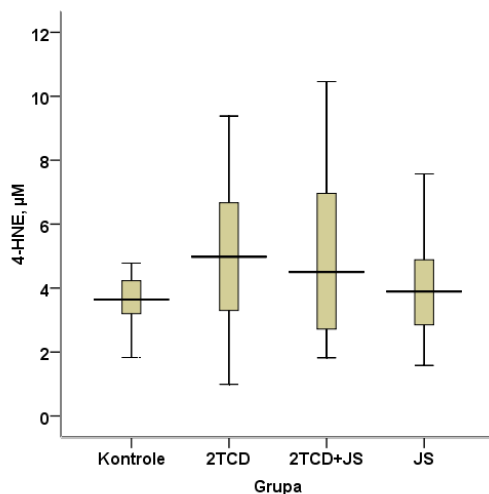
2TCD gr. MDA daudzums bija tuvu statistiski ticamam augstāks par 9% ($p = 0,076$) nekā kontroles grupā.



3.19. att. **Malondialdehīda daudzums**

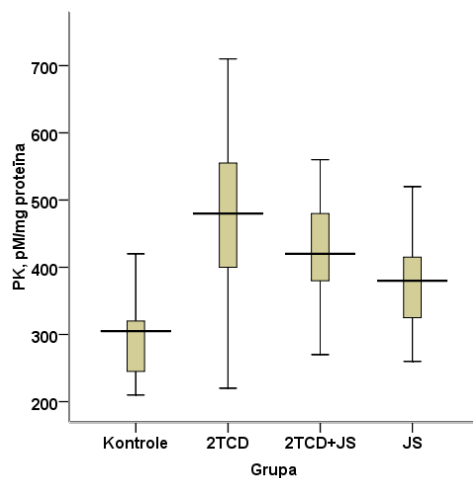
4-hidroksinonenāla daudzuma izmaiņas attēlotas 3.20. attēlā.

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 ($p = 0,091$).



3.20. att. **4-hidroksinonenāla daudzums**

Proteīnu karbonilu daudzums statistiski ticami bija palielināts visās pētījuma grupās, salīdzinot ar kontroles grupu (3.21. attēls).

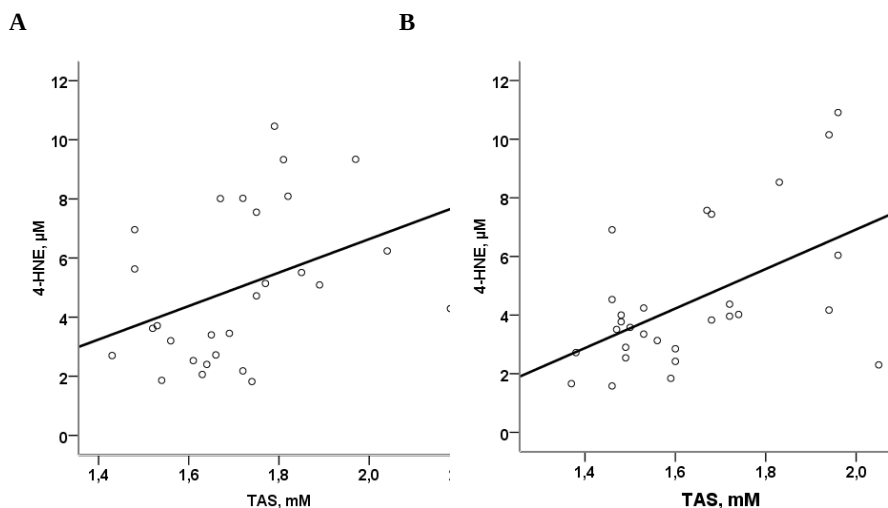


3.21. att. **Proteīnkarbonilu daudzums**

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 bija statistiski ticami augstāks nekā JS gr. ($p < 0,001$ un $p = 0,030$, attiecīgi).

Pētījuma grupās – 2TCD + JS un JS – bija pozitīva vidēji cieša korelācija TAS ar 4-HNE (3.22. attēla A un B).



3.22. att. Korelācija starp TAS un 4-HNE 2TCD + JS (A) un JS grupā

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

B: Korelācija: $r_s = 0,447$, $p = 0,015$

Pētījumā tika konstatēts, ka visās grupās Se daudzums ir zemāks par pieņemto normu (80–120 μg/L): JS grupā – 68,5 (18,75) μg/L; 2TCD grupā – 75,5 (17,00) μg/L; 2TCD + JS grupā – 66,0 (22,0) μg/L, un kā GPx integrālajam komponentam Se būtu jāietekmē enzīma aktivitāte.

Zemā Cu, Zn-SOD aktivitātē 2TCD pacientiem ir saistīta ar minētā enzīma inhibēšanu, kuru spēj izraisīt hiperglikēmija vai pārlika H_2O_2 uzkrāšanās organismā. Konstatētais Cu, Zn-SOD aktivitātes nemainīgums abās grupās, kurās bija iesaistīti ČAES avārijas seku likvidētāji, varētu būt saistīts ar palielināto šā enzīma gēnu ekspresiju, kuru varētu uzskatīt kā adaptīvo atbildi uz OS. Zināms, ka Cu, Zn-SOD piemīt radioprotektīvas īpašības un tādēļ tai ir būtiska loma radioadaptīvajās atbildes reakcijās [Randah et al., 1997]. Pazeminātā GPx aktivitātē 2TCD un 2TCD + JS grupā saistīta gan ar Se deficītu organismā, tā substrāta 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. Pieļaujam, ka līdz ar GPx salīdzinoši zemo aktivitāti, varētu pieaugt gan H_2O_2 , gan LOOH koncentrācijas, kam sekotu LPO galaproduktu MDA un 4-HNE pieaugums.

Izvērtējot LPO rādītājus, redzams (3.19. attēls), ka MDA daudzums būtiski pieaudzis ČAES avārijas seku likvidētājiem ar / bez 2TCD, bet 2TCD grupā konstatēta tendence MDA pieaugumam. ČAES avārijas seku likvidētājiem ar 2TCD 4-HNE daudzums paaugstināts mazāk (24%) nekā 2TCD pacientiem (37%), salīdzinot ar kontroles grupu. ČAES avārijas seku likvidētājiem bez 2TCD pastāvēja vāja pozitīva korelācija starp GPx un 4-HNE, acīmredzot, pateicoties augstai GPx aktivitātei, 4-HNE daudzums organismā nepieauga. Oksidatīvā stresa apstākļos parasti novērotais 4-HNE pieaugums liecina par n-6 taukskābju oksidācijas palielināšanos un nespēju pazeminātas GPx aktivitātes gadījumā kavēt endoperoksīdu sadalīšanos.

Konstatētā JS un 2TCD + JS grupās vidēji ciešā korelācija starp TAS un 4-HNE līmeni (3.22. attēls) liecina par kompensatoro mehānismu ieslēgšanos, t. i., lipīdu oksidatīvos bojājumus vienlaicīgi pavada AOS aizsardzības pieaugums. 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. 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 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. 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 KLF, 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. ČAES avārijas seku likvidētājiem, kuriem attīstījies 2TCD, bija samazināta GPx aktivitāte, palielināts MDA un PK, kā arī 4-HNE daudzums, ko varētu pamatot ar hiperglikēmijas efektu. Pamatojoties uz šā pētījuma atradni un literatūras datiem, varam secināt, ka lipīdu un proteīnu oksidācijas metabolītiem MDA, 4-HNE un PK ir nozīmīga loma ČAES avārijas seku likvidētāju multifunkcionālo saslimšanu attīstībā, to skaitā 2TCD progresēšanā. Vēlams šādās situācijās lietot dabiskas vielas ar antiradikālu darbību un Se.

4. 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 terpenlaktonus (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 ir 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.

5. 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.

PATEICĪBAS

Pateicos kolēģiem par iedrošinājumu stāties doktorantūrā un uzrakstīt promocijas darbu. Promocijas darba autors pauž pateicību darba vadītājam *Dr.biol.*, asoc.prof. **Andrejam Šķesteram** par atbalstu un noderīgiem padomiem visā darba sagatavošanas gaitā, kā arī zinātniskajam konsultantam *prof.emeritus* **Kimam Rainsfordam** par piedalīšanos projektu izstrādē, vērtīgām diskusijām un komentāriem.

Tencinu darba kolektīvus, bez kuru līdzdalības šis pētījums nebūtu iespējams. Paldies saku Bioķīmijas laboratorijas kolēģiem, kuri bija iesaistīti analīžu veikšanā – augsti kvalificētai ķīmiķei analītiķei **Ninai Rusakovai**, kuras vairs nav mūsu vidū, **Līgai Lārmanei** un **Innai Burdukovai**.

Pateicos P. Stradiņa KUS Aroda un radiācijas medicīnas centra kolektīvam par palīdzību un atbalstu promocijas darba tapšanas procesā – *Dr.med.* **Tijai Zvagulei** un **Natālijai Gabruševai**.

Tencinu Lietuvas Veselības zinātņu universitāti par veiksmīgu sadarbību EUREKA projektā.

Sirsnīgs paldies Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedras darba kolektīvam par atbalstu promocijas darba akceptēšanai un virzīšanai aizstāvēšanai.

Pateicos darba recenzentiem *Dr.med.* **Inesei Mārtiņsonai**, *Dr.biol.* **Dacei Tirzītei** un *Dr.habil.med.* profesoram **Arunam Savickam** par vērtīgajiem padomiem.

Paldies RSU Valodas centra lektorei **Žanetei Ozolai** par konsultācijām un palīdzību promocijas darba tulkošanā angļu valodā, par palīdzību statistisko aprēķinu veikšanā pateicos **Imantam Kalniņam**.

Esmu ļoti pateicīga Rīgas Stradiņa universitātei par doto iespēju studēt doktorantūras studiju programmā un saņemt finansiālo atbalstu no ESF

līdzfinansēta projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē”, vienošanās Nr. 2009 / 0147 / 1DP / 1.1.2.1.2 / 09 / IPIA / VIAA / 009, un RSU Doktoru studiju granta, it īpaši pateicos Doktorantūras nodaļas personālam par atsaucību un atbalstu.

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., Jurgevicene N., Zalinkevicius 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 (27th 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, 26–29th April, 2006 (ISBN 9955-608-33-1): 203–205.
3. Skesters A., Zvagule T., Rainsford K., Silova A., Rusakova N., Eglīte 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, 13–15th 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 24–25th, 2013: 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 7–8th, 2012: 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. 6–7th, 2012: 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 27–28th 2011: 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 13–15th, 2009: 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: 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 27–29th, 2008: 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 Чернобыльской 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 3rd–4th, 2013; 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 24–25th, 2013; 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 7–8th, 2012; 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. 16–17th June, 2011: 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 antioxidative potential of the Chernobyl clean-up workers. // 14th International congress of radiation reserch. Warsaw, Poland. 28th August–1st September, 2011: 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. 28th August–1st September, 2011: 185.
7. Troschenkova 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 29th–May 1st, 2011: 124.
8. Силова А., Шкестерс А., Савицкиене Н., Русакова Н., Спациене А., Моисеев Г. Возможное применение препаратов, содержащих флавоноиды, для корегирования 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 potentil of *diabetes mellitus* patient prior with natural antioxidants supplementation // 1st World congress on oxidative stress, Interfility&Degenerative diseases. Lyon, France, April 29–30th 2010: 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 21st–22nd, 2006: 66.

3. Uzstāšanās vietēja mēroga zinātniskā konferencē Latvijā ar stenda referātu

1. Zvagule T., Kalniņa I., Kurjāne N., Reste J., Kirilova E., Silova A., Šķesters 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 Ņ., 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 starojuma devas // RSU 2012. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2012. – 133. lpp.
5. Silova A., Šķesters A., Lārmane L., Rusakova Ņ., 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 Ņ., 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 ČAES 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, Ņ. Rusakova, J. Reste, L. Lārmane. Antioksidantu un ibuprofēna ietekme uz prostatīta attīstības risku ČAES avārijas seku likvidētājiem: Biokīmiskais aspekts // RSU 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes – Rīga, RSU, 2007. – 75. lpp.

Konferenču tēzes par pētījuma tēmu

1. Tēzes starptautiska 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 – 23th Sep.t, 2006: 45.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. 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.
2. Bhagavan H. N., Chopra R. K. Coenzyme Q₁₀ :absorbtion, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics // *Free Radical Reserch*, 2006; 40:445-453.
3. Emerit I. Clastogenic factors as potential biomarkers of increased superoxide production // *Biomark Insights*, 2007; 2: 429–438.
4. Fazlul H. Molecular modelling analysis of the metabolism of ibuprofen // *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2006; 1 (5): 456–463.
5. 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.
6. 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.
7. 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 Reserch*, 2006; 66 (20): 10057–10063.
8. 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.
9. Moskaug J., Carlsen H., Myhrstad N. and Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation // *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005; 81 (1): 277 S-283 S.
10. Paganga G., Al-Hashim H., Khodr H., et al. Mechanisms of antioxidants activities of quercitin and catechin // *Redox Report*, 1996; 2 (6): 359–364.
11. Peyroux J., Sternberg M. Advanced glycation endproducts (AGEs):pharmacological inhibition in diabetes // *Pathologie Biologie*, 2006; 54: 405–419.
12. Rainsford Kim D. Ibuprofen: a critical bibliographic review CRC press, Sep. 2nd, 2003 – Medical – pP 178–179.
13. 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.
14. Scalbert A., Johnson I. and Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond // *American Journal of Clinical Nutrition*, 2005; 81 (1): 215 S–217 S.
15. Zu K., Ip C. Synergy between selenium and vitamin E in apoptosis indusction is associated with activation of distinctive initiator caspases in human prostate vancer cells // *Cancer research*, 2003; 63: 6988-6995.