



Jana Janovska

**Ādas novecošanās pazīmju
novērtējums pacientiem
ar metabolisko sindromu
pēc substitūcijas ar selēnu**

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

Nozare – klīniskā medicīna
Apakšnozare – internā medicīna

Rīga, 2021



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Jana Janovska

ORCID 0000-0002-3607-4218

Ādas novecošanās pazīmju novērtējums
pacientiēm ar metabolisko sindromu
pēc substitūcijas ar selēnu

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

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – internā medicīna

Rīga, 2021

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijā

Promocijas darba vadītāji:

Dr. med. asociētais profesors **Jānis Ķīsis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Dermatoloģijas un infektoloģijas katedra, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Jūlija Voicehovska**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējīgo slimību katedra, Latvija

Zinātniskā konsultante:

Dr. med. profesore **Regīna Kleina**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Iekšējīgo slimību katedra, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesors **Oskars Kalējs**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Rūta Gancevičienē**,
Infekcijas slimību un dermatoveneroloģijas klīnika, Klīniskās medicīnas
institūts, Medicīnas fakultāte, Viļņas Universitāte, Lietuva

Dr. med. profesors **Arunas Savickas**,
Kauņas Universitāte, Farmaceutiskās tehnoloģijas un sociālās farmācijas
departaments, Lietuva

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Klīniskās medicīnas promocijas padomes
atklātā sēdē 2021. gada 8. septembrī plkst. 15.00, Dzirciema ielā 16 un
attālināti, *Zoom* tiešsaistes platformā.

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



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

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. docente **Sandra Gintere**

Saturs

Saīsinājumi	5
Ievads	8
Darba mērķis	9
Darba uzdevumi	9
Darba hipotēze	9
Darba novitāte	9
1. Materiāli un metodes	11
1.1. Projekta pētījuma uzbūve, pētījuma dizains	11
1.2. Primāro datu iegūšanas metodes vai sekundāro datu avoti	13
1.3. Pētnieciskā projekta sadarbības partneri	16
1.4. Datu statistiskās analīzes metožu uzskaitījums un izvēles pamatojums	17
1.5. Materiāli un metodes	18
2. Literatūras apskats	19
2.1. Ādas uzbūve	19
2.1.1. Ādas barjera un filagrīns	20
2.1.2. Ādas fizioloģiskie un patoloģiskie novecošanās cēloņi	21
2.2. UV starojums un ādas novecošanās tā rezultātā	22
2.3. Ādas imūnsistēma: tās funkcijas	22
2.3.1. Ādas imūnsistēmas trīs posmu atbildes reakcijas koncepts	23
2.3.2. Langerhansa šūnas	23
2.3.3. Birbeka granulas	23
2.4. Oksidatīvais stress un tā ietekme uz ādu: antioksidanti un selēns	24
2.5. Āda, metaboliskais sindroms un ksenobiotikas	26
2.5.1. Ar metabolisko sindromu biežāk asociētās ādas slimības	28
2.5.2. <i>Acanthosis nigricans</i>	29
2.6. Ādas novecošanās indekss	29
2.6.1. Ādas izmaiņas brīvo radikāļu ietekmē	29
3. Rezultāti	31
3.1. Aprakstošā statistika	31
3.1.1. Aprakstošā statistika kvalitatīvajiem datiem	31
3.1.2. Aprakstošā statistika kvantitatīvajiem datiem	32
3.2. Atkarīgu izlašu testi	36
3.2.1. Maknemara testa rezultāti	36
3.2.2. Vilkoksona testa rezultāti	37

3.3. Ādas novecošanās indekss. Jauns brīvo radikāļu izraisīta bojājuma noteikšanas paņēmiens	40
3.3.1. Apskate	40
3.3.2. Ādas novecošanās indeksa prognozēšana atkarībā no to ietekmējošajiem faktoriem	40
4. Diskusija	42
Secinājumi	43
Praktiskās rekomendācijas	45
Publikācijas par pētījuma tēmu	46
Literatūras saraksts	47
Pateicības	55

Darbā izmantotie saīsinājumi

ABL	augsta blīvuma lipoproteīns
AD	atopiskais dermatīts
AGE	glikācijas gala produkti (angl. <i>advanced glycation end products</i>)
Ag	antigēns
AhR	arilhidrokarbona receptors
AH	arteriāla hipertensija
AN	<i>acanthosis nigricans</i>
ĀNI	ādas novecošanās indekss
ĀIS	ādas imūnsistēma
AO	antioksidants
AU	attiecināmas vienības (angl. <i>attributed units</i>)
BCC	bazālo šūnu karcinoma (angl. <i>basal cell carcinoma</i>)
BG	Birbeka granulas
BR	brīvie radikāļi
CD	cukura diabēts
COX-1	ciklooksigenāze 1
COX-2	ciklooksigenāze 2
CRO	C reaktīvais olbaltums
DMF	dabīgais mitrinošais faktors
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
ERC	endosomālais pārstrādes nodalījums (angl. <i>endosomal recycling compartment</i>)
FOXO	transkripcijas faktors
GPx	glutaciona peroksidāze
Hol	holesterīns
ICD	Starptautiskā slimību klasifikācija (angl. <i>International classification of diseases</i>)

IDF	Starptautiskā diabēta asociācija (angl. <i>International Diabetes Federation</i>)
IGF	augšanas faktors 1 (angl. <i>interstitial growth factor</i>)
IL-6	interleikīns-6
IR	insulīna rezistence
ĶMI	ķermeņa masas indekss
KVS	kardiovaskulārās slimības
LHš	Langerhansa šūnas
LTB	leikotriēns B
MACE	kardiāls notikums (angl. <i>major cardiac event</i>)
MDA	malondialdehīds
MetS	metaboliskais sindroms
MMP	matrices metālproteināze
MMP-1	metālproteināze-1
OS	oksidatīvais stress
PVO	Pasaules Veselības organizācija
P53	audzēja proteīns (angl. <i>tumor protein p53</i>)
PM	cietā daļiņa (angl. <i>particulate matter</i>)
ROS	brīvie skābekļa radikāļi (angl. <i>reactive oxygen species</i>)
SIRT1	sirtuīns 1
Se	selēns
SOD	superoksīda dismutāze
SPF	saules aizsargfiltrs (angl. <i>sun protective filter</i>)
TEA	teleangiektāzija
TG	triglicerīdi
TNF-beta	audzēja nekrozes faktors beta
TOR	antagonista augšanas citokīns
T2DM	otrā tipa cukura diabēts (angl. <i>type 2 diabetes mellitus</i>)

UV	ultravioletais (starojums)
UVI	ultravioletais indekss
UVA	ultravioletais starojums A
UVB	ultravioletais starojums B
UVC	ultravioletais starojums C
ZBL	zema blīvuma lipoproteīns
AI	apoptozes indekss

Ievads

Ādas novecošanās ir sarežģīta bioloģiska parādība, kas sastāv no divām komponentēm, kuras savstarpēji pārklājas: iekšējās (īstās novecošanās) un ārējās novecošanās. Metaboliskā sindroma (MetS) gadījumā viens no patoģenētiskajiem mehānismiem ir oksidatīvais stress (OS), kas organismā un arī ādā uztur hronisku latentu iekaisumu. OS ir prooksidantu un antioksidantu disbalansa stāvoklis, kura gadījumā reaktīvo skābekļa formu (*Reactive Oxygen Species*, ROS) tīrā summa pārsniedz organisma antioksidatīvās aizsardzības spējas.

Ādā vērojami procesi ir tuvākais ceļš informācijas iegūšanai un novecošanās izvērtēšanai. Bieži sastopamās ādas slimības, nevēlamas ādas pārmaiņas var nebūt nāvējošas, taču tās pasliktina dzīves kvalitāti. Fotonovecošanai ir raksturīgs hronisks iekaisums ādā, kas izveidojas pārmērīga UV starojuma dēļ (Danos et al., 2016).

Viens no ādas novecošanās paātrināšanas iekšējiem faktoriem ir liekais svars, centrālā tipa aptaukošanās, tostarp MetS, kas mūsdienās ir definēts kā atsevišķa nozoloģija. MetS ir sindroms, kura galvenie raksturīgie simptomi ir iekšējo orgānu aptaukošanās, insulīna rezistence (IR), samazināts augsta blīvuma lipoproteīnu (ABL) holesterīna daudzums un paaugstināts triglicerīdu daudzums asinīs (dislipidēmija) un arteriālā hipertensija. Tā kā MetS dēļ var izveidoties kardiovaskulārās slimības (KVS) un 2. tipa cukura diabēts (CD), agrīna diagnosticēšana ir ļoti svarīga. Antioksidanti (AO) vai vielas, kas novērš citu molekulu oksidēšanos, ir uztura faktori, kas saistīti ar MetS (Gregorio, 2016). Ir novērots, ka AO lietošana samazina OS un iekaisuma reakciju, kas ir iesaistīta MetS attīstībā (Soory, 2012).

Darba mērķis

Pētīt ādas fotonovecošanās pazīmes un izvērtēt selēna terapijas efektivitāti pacientiem ar MetS (Latvijas iedzīvotājiem).

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. izvērtēt metaboliskā sindroma simptomus un ādas parametrus metaboliskā sindroma pacientu un kontroles grupās, pētīt fizikālos, instrumentālos un laboratoriskos datus;
2. identificēt un aprakstīt ādas novecošanās pazīmes metaboliskā sindroma pacientu grupā (vizuāli, kā arī lietojot dermatoskopisku un histoloģisku izmeklēšanu);
3. izvērtēt ādas izmaiņas pēc organiskā selēna substitūcijas;
4. izvērtēt savstarpējās sakarības starp metaboliskā sindroma simptomiem, oksidatīvā stresa parametriem un ādas izmaiņām metaboliskā sindroma pacientu un kontroles grupās.

Darba hipotēze

Selēna substitūcija uzlabo ādas novecošanās parametrus metaboliskā sindroma pacientiem.

Darba novitāte

1. Pirmo reizi Latvijā tika aprakstītas ādas novecošanās pazīmes un oksidatīvā stresa parametri pacientiem ar metabolisko sindromu Latvijas populācijā.

2. Pirmo reizi tika padziļināti izpētītas, salīdzinātas un aprakstītas ādas struktūras histoloģiskās īpatnības metaboliskā sindroma pacientiem un pacientiem bez metaboliskā sindroma Latvijas populācijā selēna terapijas fonā.
3. Pirmo reizi tika noteikts un pārbaudīts ādas funkcionālais stāvoklis, izmantojot dermatoloģisku aparatūru, izvērtējot ādas mikroreljefu, fotonovecošanās pazīmes un sejas ādas kapilārus pacientiem ar metabolisko sindromu un pacientiem bez tā.

1. Materiāli un metodes

1.1. Projekta pētījuma uzbūve, pētījuma dizains

Tika veikts prospektīvs pētījums, kurā bija iesaistīti 196 abu dzimumu pacienti. Pavisam tika izmeklēti 111 metaboliskā sindroma (MetS) pacienti, kā arī 85 praktiski veseli pacienti (kontrolgrupa).

Pacienti tika iedalīti četrās grupās:

1. grupa – pacienti ar MetS, kas substitūcijā lieto selēnu;
2. grupa – pacienti bez MetS, kas substitūcijā saņem selēnu;
3. grupa – pacienti bez MetS, kas nekādu substitūciju nesaņem (kontrolgrupa);
4. grupa – pacienti ar MetS, kas substitūcijā nelieto selēnu.

Pētījums veikts starp Latvijas iedzīvotājiem, kas nokļuvuši Paula Stradiņa KUS un profesora Jāņa Ķīša privātpraksē.

1.1. tabula

Pacientu iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji

Pacientu iekļaušanas kritēriji	Pacientu izslēgšanas kritēriji
Pacienti laikā no 2012. gada 1. janvāra līdz 31. decembrim	Citā periodā
Pacienti ar metabolisko sindromu (IDF, 2006)	Pacienti ar III–IV ādas fototipu
I–II ādas fototips pēc Ficpatrika klasifikācijas	Pacienti, kas ir jaunāki par 40 un vecāki par 55 gadiem
Pacientu vecums 40–55 gadi	Anamnēzē ir bijušas sejas estētiskās operācijas, pīlīngi, dermoabrazija
Anamnēzē nav bijušas estētiskās operācijas	Sauļojas vairāk par 20 reizēm gadā
Sauļošanās laikā izmanto saules aizsarglīdzekļus (SPF)	Neizmanto saules aizsarglīdzekļus (SPF)
Neapmeklē solārijus	Apmeklē solārijus
Nav hronisku slimību (onkoloģisku slimību, psoriāzes, sēnītes, onihomikozes)	Ir hroniskas slimības (onkoloģiskās slimības, autoimūnās slimības, psoriāze, sēnīte, onihomikoze)

1.1. tabulas turpinājums

Pacientu iekļaušanas kritēriji	Pacientu izslēgšanas kritēriji
Nelieto glikokortikoīdus	Pacienti ar glikokortikoīdu terapiju, perorālo kontraceptīvo terapiju
Nestrādā ilgstoša UV starojuma iedarbības vietās (celtniecībā, būvniecībā, ceļa remontdarbos), atlēti	Darbs, kas saistīts ar ilgstošu UV starojuma iedarbību uz ādu
Vidēja insolācijas pakāpe (saules ekspozīcija vidēja, visu sezonu pacienti pavada Eiropas vidienē vai ziemeļdaļā)	Hipersensitivitāte pret selēnu vai tā komponentiem

Kontrolgrupas pacienti:

1. Pacienti bez MetS.
2. Vecuma grupa – 40–55 gadi.
3. Gandrīz veseli cilvēki (nav ne hronisku, ne onkoloģisku slimību).
4. I–II ādas fototips pēc Ficpatrika klasifikācijas.
5. Anamnēzē nav bijušas kosmētiskās operācijas.
6. Sauļošanas laikā izmanto saules aizsarglīdzekļus (SPF).
7. Neapmeklē solārijus.
8. Nelieto glikokortikoīdus.
9. Pacienti ar vidēju insolācijas pakāpi (saules ekspozīcija vidēja, visu sezonu pacienti pavada Eiropas vidienē vai ziemeļdaļā).

Pētījumā iekļautie pacienti (2.1. tab.) trīs mēnešus lietoja selēnu (*SelenoPRECISE*, *PharmaNord*, Dānija) 200 µg dienā; pirms antioksidanta lietošanas tika izvērtēts selēna līmenis asins serumā. *SelenoPRECISE* no Dānijas firmas *PharmaNord* tika saņemts humānās palīdzības veidā; tas satur augstas kvalitātes selēnu un 1999. gadā Latvijas Pārtikas centrā tika reģistrēts kā uztura bagātinātājs (Atzinums Nr. 141).

Piecdesmit sešiem pacientiem tika lokāli uz sejas ādas lietota selēnu saturoša kompozīcija uz ūdens bāzes (krēms).

Pētījumi tika veikti ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komisijas atļauju un izmeklējumu protokolu, piekrišanas protokols un dalības anketa atbilst Eiropas Direktīvai “Teicama klīniskā prakse” un Helsinku Deklarācijai. Interesešu konflikts nepastāv.

1.2. Primāro datu ieguves metodes un sekundāro datu avoti

Darba gaitā tika analizēti primārie pacientu dati, veikti klīniski instrumentālie izmeklējumi – pacienta fizikālā izmeklēšana ar antropometrisko parametru noteikšanu. Tika noteikts ķermeņa masas indekss pēc formulas: ķermeņa masa (kg) / augums (m²). Viscerāla tipa aptaukošanās noteikšanai (lietojot metramēru) tika mērīts vēdera apkārtmērs: sievietēm > 88 cm, vīriešiem > 102 cm. Asinsspiediens tika mērīts pēc Korotkova metodes.

Tika noteikti MetS asins seruma komponentu parametri (glikozes līmenis tukšā dūšā, ZBL, ABL, kopējais holesterīna līmenis, triglicerīdi), OS parametri (selēns, SOD, MDH, GPx), D vitamīna un selēna līmenis asinīs, no asins bioķīmiskajiem parametriem – CRO, IL-6 un TNF-beta kā iekaisuma marķieri.

Laboratorisko analīžu veikšanai visiem pētījuma dalībniekiem no rīta tukšā dūšā ņēma no vēnas asinis. Asinis savāca vakutainerā, kur kā antikoagulantu izmantoja *LiHep*. Pētījumā tika izmantoti ķīmiski tīrie reaģenti *Merck analytical grade*.

Bioķīmiskās analīzes tika veiktas E. Gulbja laboratorijā.

OS parametri (selēns, SOD, MDA, GPx) tika noteikti RSU Bioķīmijas laboratorijā.

Malondialdehīda (MDA) noteikšanas princips paredz noteikt atsevišķi MDA (sālsskābē) vai MDA kombinācijā ar HNE (metānsulfonskābes klātbūtnē). Divas 4-HNE un MDA molekulas, reaģējot ar N-metil-2-fenilindolu 45 °C temperatūrā, veido stabilu hromoforu ar absorbcijas maksimumu, ja spektrofotometrijas viļņu garums ir 586 nm (Esterbauer, 1990; Janero, 1990).

Cu, Zn-superoksīda dismutāzes noteikšana tiek veikta pēc automātiskas spektrofotometrijas saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd.)*. Heparinizētas asinis centrifugē ar 3000 rpm 10 minūtes un nosūc augšējo slāni. Pēc tam eritrocītus mazgā trīs reizes ar izotonisko šķīdumu, centrifugējot katru reizi pēc katras mazgāšanas 10 minūtes ar 3000 rpm. Mazgātos eritrocītus (0,2 ml) lizē līdz 2,0 ml ar aukstu redestilētu ūdeni, samaisa un tur 15 minūtes +4 °C temperatūrā. Lizātu atšķaida ar 0,01 mol/l fosfāta buferšķīdumu pH 7,0 tā, lai inhibēšanas procenti būtu starp 30 un 60 (lizāta atšķaidījums cilvēku paraugiem – 25; Woolliams et al., 1983).

Selēna fluorimetriskā metode balstās uz selēna reducēšanos līdz četrvērtīgiem savienojumiem, kuri ar 2,3-diaminonaftalēnu veido kompleksus, ko nolasa, ja ierosmes viļņa garums ir 369 nm un spektrofotometrijas viļņa garums ir 518 nm (Alfthan, 1984).

Glutationperoksidāze tiek noteikta automātiski ar spektrofotometriju saskaņā ar ražotāja instrukciju analizatoram *RX Daytona (Randox laboratories, Ltd., Crumlin, UK)*. Glutationperoksidāze kumenes hidroperoksīda klātbūtnē katalizē glutaciona (GSH) oksidēšanos. Oksidētais glutations (GSSG) tālāk glutationreduktāzes (GR) un NADPH ietekmē pārvēršas reducētā formā – GSH, vienlaicīgi NADPH oksidējoties par NADP⁺. Glutationperoksidāzes aktivitāte atbilst absorbcijas kritumam, kas notiek, ja spektrofotometrijas viļņa garums ir 340 nm, un ko izraisa NAPH oksidēšanās. Viena vienība atbilst fermenta daudzumam, ko izraisa 1,0 μM NADPH oksidēšanās par NADP⁺ 1 minūtē, ja spektrofotometrijas viļņa garums ir 340 nm, 37 °C temperatūrā.

Ādas struktūra un ādas stāvoklis tika izvērtēti **dažādos etapos**, sākot ar vizuālo apskati, izmantojot ādas novecošanās indeksu (ĀNI), un turpinot ar dermatoloģisko profesionālo aparatūru (*Dermlite DL3*), kur tika konstatētas ādas priekšlaicīgas novecošanās īpatnības un izvērtēts ādas novecošanās indekss.

Ādas klīniskās diagnostikas pamatelementi:

Ādas vizuālā apskate, kuras gaitā tiek izvērts ādas dermatoloģiskais statuss, tās kopējais stāvoklis (krāsa, turgors, lobīšanās), kā arī izvērtētas pamatproblēmas (poru paplašināšanās, mikroreljefa nelīdzenums, krunciņas).

Ādas izmeklēšana ar dermatoskopu, izmantojot ādas novecošanās indeksu (ĀNI). Dermatoskopija ir augsti informatīva neinvazīva ādas izmeklēšanas metode, ko lieto ādas vizuālajā klīniskajā izmeklēšanā. Tās laikā tika izvērtēts ādas turgors dekoltē un vaigu zonā, izvērtēta ādas lobīšanās un sausuma pakāpe, noteikts ādas krunciņu daudzums un to īpašības: skaits, platums, dziļums, kā arī reljefs. Izvērtēti pigmentācijas traucējumi: lentigo tipa pigmentācija un/vai dishromija (gaiši vai tumši plankumi).

Ādas strukturālajai un morfoloģiskajai izvērtēšanai lietoja ādas biopsijas materiālu (angl. *punch biopsy*). Biopsijas instruments: trepānbiopsija. Biopsiju veica ar *DERMO-PUNCH* (Audin, 2001; Balaban et al., 2005) instrumentu. Pacientam ievadīja lokālu anestēziju ar 5 % lidokaīna šķīdumu.

Ādas histoloģiskai izvērtēšanai biopsijas materiālu fiksēja 10 % formalīna šķīdumā un pārleja ar parafīnu. Parafīna materiāla plāksnes 7 mkm biežumā iekrāsoja ar hematoksilīnu-eoziņu un pikrofucīnu pēc Van-Gizona metodes. Ādas preparātu izvērtēja gaismas mikroskopā 400 reīzu lielā palielinājumā. Analīzes tika veiktas ar mērķi tālākai imūnhistoķīmiskai izmeklēšanai tika noteikts kolagēns, fibrīns, elastīns tika izvērtēti kā ādas novecošanās marķieri un savukārt CD3, CD68, CD20, CD34, makrofāgi – kā iekaisuma marķieri. (Informācija par veiktajiem pētījuma izmeklējumiem ir apkopota 1.2. tab.).

Pētījumā veiktie izmeklējumi

Pacienta izmeklēšana, ādas klīniskā izmeklēšana, optiskā dermatoskopija
<ul style="list-style-type: none"> • ĶMI (kg/ m²) • vidukļa apkārtmērs, cm • asinsspiediena mērīšana pēc Korotkova metodes • ādas dermatoloģiskais stāvoklis, tās kopējais stāvoklis (krāsa, turgors, lobīšanās) • izvērtētas pamatproblēmas (poru paplašināšanās, mikroreljefa nelīdzenums, krunciņas) • hipo un / vai hiperpigmentācijas, seborejiskās keratozes, <i>lentigo solaris</i>, <i>keratosis actīnica</i>, <i>acanthosis nigricans</i>
Asins bioķīmiskā analīze
<ul style="list-style-type: none"> • Glikoze tukšā dūša • ZBL, ABL, kopējais holesterīns, triglicerīdi • OS parametri (SOD, MDH, GPx, selēns) • 25(OH)D līmenus serumā • Iekaisuma marķieri: CRO
Ādas <i>punch</i> biopsija, histopatoloģiskā un imūnohistoķīmiska izmeklēšana (ādas preparātu izvērtēja gaismas mikroskopā 400 reižu lielā palielinājumā)
<ul style="list-style-type: none"> • ādas novecošanās marķieri (kolagēns, fibrīns, elastīns) • asinsvadu kapilāru stāvoklis, kapilāru blīvums (CD3, CD31, CD34-) • CD68 (makrofāgi)
Instrumentālie lietojamie rīki
<ul style="list-style-type: none"> • Optiskais dermatoskops <i>Dermlite DL3</i> • <i>Age Reader</i> glikācijas pakāpes noteikšanai (ādā ar autofluorescences iekārtu) • <i>ARamoSG</i> aparāts: TEA un dispigmentācijas, ādas mikroreljefa noteikšanai • ĀNI izveidošana un lietošana

1.3. Pētnieciskā projekta sadarbības partneri

1. *Pharma Nord ApS: Sadelmagervej 30-32, DK-7100, Vejle, Denmark.*
Humānās palīdzības veidā. Telefona Nr.: (+45) 75 85 74 00; Faksa Nr.: (+45) 75 85 74 74.
2. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Patoloģijas centrs, profesore Regīna Kleina.

3. Rīgas Stradiņa universitātes Bioķīmijas laboratorija.
4. ERAF projekts “Jauna dermokosmētikas līdzekļa izstrāde pacientiem ar metabolisko sindromu ādas barjerfunkcijas atjaunošanai”; vienošanās Nr. 2014/0024/2DP/2.1.1.1.0/14/APIA/VIAA/076.
5. E. Gulbja laboratorija, Rīga, Latvija, humānās palīdzības veidā (līguma Nr. PEM-13-2013).

1.4. Datu statistiskās analīzes metožu uzskaitījums un izvēles pamatojums

Iegūtie dati tika ievadīti *Microsoft Excel* tabulā, pēc tam apstrādāti statistiski un analizēti *SPSS* programmā ar 22.0 programmas versiju. Atbilstoši vispārējiem principiem p vērtība 0,05 tika uzskatīta par divpusējo testu rezultātu statistikas ticamības sliekšni. Darba gaitā tika izmantots Kolmogorova–Smirnova tests. Kvantitatīvie mainīgie normāli sadalītiem datiem tiks aprakstīti ar aritmētisko vidējo un standartnovirzi; datiem, kas nav normāli sadalīti, – ar mediānu un kvartilēm. Kategoriskie jeb kvantitatīvie mainīgie tika raksturoti ar procentuālo proporciju. Visu mainīgo saistība tika analizēta ar Spīrmena korelācijas palīdzību (1.3. tab.). Atkarīgu izlašu salīdzināšanai izmantoti divi – Vilksoksona un Maknemara – testi.

Pētījuma mainīgie

Atkarīgie mainīgie	Neatkarīgie mainīgie
Ādas novecošanās indekss	Ķermeņa masas indekss
Dislipidēmija	Superoksīda dismutāze
Arteriālā hipertensija	-
Centrālā tipa aptaukošanās	-
Insulīna rezistence	-
Pārmērīga UV starojuma ekspozīcija	-
Fotonovecošanās	-
Antioksidantu deficīts	-
Augsts ādas premaligno stāvokļu risks (aktīniskās keratozes)	-

1.5. Materiāli un metodes

Tika apsekoti pavisam 196 pacienti. Datu analīzē tika izmantotas datorprogrammas *MS Excel* un *SPSS 22*. Datu analīzē tika izmantota literatūra (Teibe and Berķis, 2001; Teibe, 2007). Lielākā daļa mainīgo lielumu neatbilst normālsadalījumam ($p \leq 0,05$), tāpēc tika lietota neparametriskā statistika.

Tika lietotas šādas statistikas metodes:

- aprakstošā statistika; kvalitatīvajiem datiem – frekvences; kvantitatīvajiem datiem – mediānas un kvartiles visiem pacientiem kopā un pa pētījuma četrām grupām;
- lai noskaidrotu selēna terapijas efektivitāti, kvalitatīvajiem datiem tika lietots Maknemara tests; kvantitatīvajiem datiem – Vilksona tests;
- lai noskaidrotu visu mainīgo lielumu savstarpējo saistību, tika lietota Spīrmena rangu korelācija;
- lai prognozētu ādas novecošanās indeksu atkarībā no to ietekmējošiem faktoriem, tika lietota lineārās regresijas analīze.

2. Literatūras apskats

2.1. Ādas uzbūve

Āda ir ķermeņa ārējais audu apvalks, tās laukums ir 1,5–2 m². Tauku dziedzeri producē sebumu – tā ir ādas aizsargbarjera, kas sastāv no taukskābēm un attīra organismu no liekā holesterīna (Zhou et al., 2012).

Dermā ir ādas saistaudi. Dermis biezums ir 0,5–5 mm. Tai izšķir kārpīņu slāni un tīklaino slāni.

Ikdienā āda tiek kairināta ar eksogēniem un endogēniem faktoriem. Endogēni faktori ir diētas komponentes, sintētiskie vitamīni, metabolisma sabrukšanas produkti (2.1. tab.).

2.1. tabula

Ādas bioloģisko barjeru ietekmējošie faktori

Eksogēnie un endogēnie faktori	Dzīvesveids
Pazemināts mitrums	Diēta
Psiholoģiskais stress	Medikamenti
Sausa āda	Aptaukošanās
Augsta temperatūra (ekvatoriāli)	Alkohols un smēķēšana
UV starojums	Pārmērīga ādas macerācija

Ādai diennaktī jāražo aptuveni 100–150 mg lipīdu. Lipīdi kompleksā ar keratinocītiem izveido ādas lipīdu barjeru.

Ja cilvēkam ir bojāta ādas aizsargbarjera, tiek pastiprināti zaudēts ūdens (transepidermālais ūdens zudums) un klīniski āda kļūst sausa, raupja, niezosa, var pat izveidoties plaisas.

Keratinocītos tiek producēts dabīgais mitrinošais faktors (DMF, angl. *natural moisturizing factor*), kuram ir svarīga nozīme ādas mitrināšanā un keratinocītu diferenciācijā (2.4. att.). DMF deficīta gadījumā ādā izmainās elasticitāte un samazinās tās hidratācija.

2.2.1. Ādas barjera un filagrīns

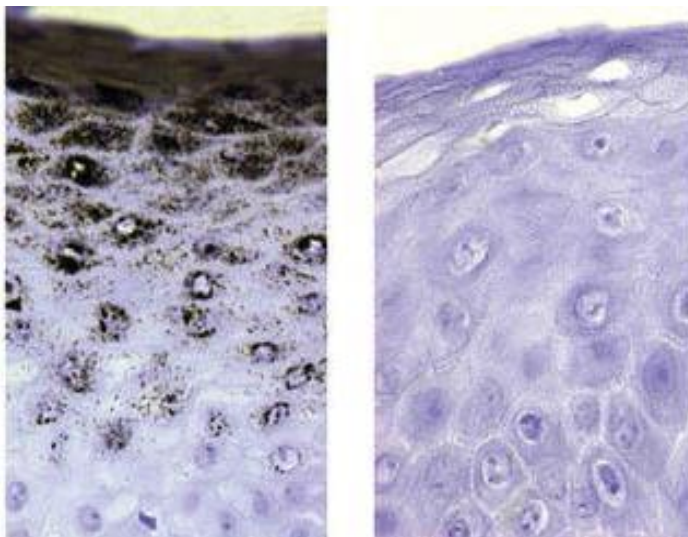
Sausa āda jeb kseroze (angl. *xerosis*) ir bieži sastopams ādas stāvoklis, kas izpaužas kā ādas raupjums, lobīšanās, nieze un apsārtums. Sauso ādu izraisošie faktori un provocējošie faktori ir atspoguļoti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Sausu ādu noteicošie un biežākie izraisītājfaktori

Noteicošie faktori	Izraisītājfaktori
Individuālās īpašības	Iedzimtā predispozīcija
Provocējošie faktori	Vecums
Slimības	Atopiskais dermatīts, psoriāze, hipotireoze
Palaidējfaktori	Temperatūra, mitrums, saules ekspozīcija, kondicionieri, apkure
Ķīmiskās vielas	Ziepes, vannas putas, parfimērija, detergenti
Fiziskie kairinātāji	Berze, radiācija, nobrāzums

Filagrīns saistās pie keratīna filamentiem epitēlijšūnās (profilaments). Filagrīnam hidroksilizējoties, veidojas aminoskābes, kas palīdz noturēt ūdeni ādā un ir nozīmīgs faktors adekvātai ādas barjerai (2.5. att.). Individīdiem ar mutāciju filagrīna gēnā var izveidoties sausa āda, atopiskais dermatīts, ihtioze, ekzēma (A Pons-Guiraud et al., 2007).



2.1. attēls. **Filagrīna granulas pacientam ar normālu ādu un granulu deficīts** (Ring, 2016)

Ādas novecošanos iedalīt šādos pamatveidos: viens, ko regulē ģenētika (fizioloģiska ādas novecošanās), un otrs, ko ietekmē ārējie vides faktori – saule, smēķēšana, pārmērīga alkohola lietošana. Kad telomēras sasniedz kritisko izmēru, šūnu cikls apstājas vai ieslēdzas apoptozes mehānisms (Toussaint, 1994).

2.2.2. Ādas fizioloģiskie un patoloģiskie novecošanās cēloņi

Fizioloģiskā ādas novecošanās ir dabisks novecošanās process, kas sākas no 20 gadu vecuma. Visizplatītākais cēlonis ir saules ultravioletais starojums (Shigenaga, Hagen and Ames, 1994).

2.2. UV starojums un ādas novecošanās tā rezultātā

Par UV starojumu sauc to saules elektromagnētiskā starojuma daļu, kurā viļņu garums ir 100–400 nm (viens nanometrs ir 10^{-9} metri). To iedala trijās kategorijās (2.3. tab.).

2.3. tabula

Ultravioletā starojuma viļņa garuma sadalījums

Viļņa garums	Ultravioletā radiācija
315–400 nm	UVA
280–314 nm	UVB
100–280 nm	UVC

Saules stariem ejot cauri atmosfērai, visu UVC un 99 % no UVB radiācijas absorbē ozona slānis, ūdens tvaiki, skābeklis un oglekļa dioksīds, kas atrodas atmosfērā. Līdz ar to uz Zemes nonāk UVA radiācija un neliela daļa UVB radiācijas (Berneburg et al., 2000). Ādas dermas slāņa elastīgās šķiedras salīp un kļūst amorfas, kas klīniski izpaužas kā dzeltenīga, bieza āda – aktīniskā elastoze. Āda ir sausāka, jo tai ir grūtāk saglabāt ūdeni (Stoebner et al., 2008). Ir noteikta 1. tipa prokolagēna sintēze cilvēka fibroblastos fotobojātā ādā *in vivo* un fibroblastos no fotobojātas ādas, kas kultivēta *in vitro* (Stoebner et al., 2008).

2.3. Ādas imūnsistēma: tās funkcijas

Šūnu populācijas, kas, mijiedarbojoties savā starpā, veido ādas imūnsistēmas (ĀIS) pamatu, ir šādas: keratinocīti, dendrītiskās antigēnprezentējošās šūnas, monocīti, makrofāgi, granulocīti, tuklās šūnas, limfātiskās, endoteliālās šūnas un T limfocīti.

2.3.1. Ādas imūnsistēmas trīs posmu atbildes reakcijas koncepts

Primārā ĀIS atbildes reakcija sākas ar iegūtās imūnsistēmas reakciju uz iekļuvušo antigēnu. Aktīvas dendrītiskās, Langerhansa šūnas piesaista Ag ar šūnas virsmas receptoriem un virzās uz perifērajiem limfātiskajiem mezgliem, kur to prezentē natīvajiem T limfocītiem.

Sekundāra ĀIS atbildes reakcija realizējas ar ātru un efektīvu lokālās iegūtās imūnsistēmas starpniecību.

Terciārai ĀIS atbildes reakcijai ir raksturīga centrālā atmiņa. Centrālās atmiņas T šūnas recirkulē visā organismā pa limfātiskajiem mezgliem un pastiprina imūnreakcijas pret iepriekš sastaptiem Ag dažādos audos.

2.3.2. Langerhansa šūnas

Eksistē pierādījumi, ka ādas novecošanās procesā izmainās dažādas imūnatbildes šūnas, tostarp Langerhansa šūnas (LHš; Cumberbath, Fielding and Kimber, 1994; Mahbub, Brubaker and Kovacs, 2011).

Tām ir nozīme dažādu dermatožu patoģenēzē, un tās piedalās ādas neoplastiskajā transformācijā. LHš skaits un izskats mainās atkarībā no dermatozes veida un arī ādas novecošanās procesos (Lang, Mitchell and Lapenna, 2010).

2.3.3. Birbeka granulas

Birbeka granulām (BG) ir neparasta nūjiņveida formas struktūra, kas raksturīga epidermas Langerhansa šūnām. Lai arī to esamība LHš pirmo reizi tika aprakstīta pirms vairāk nekā 50 gadiem, BG izcelsme un funkcijas joprojām ir grūti nosakāmas.

Domājams, ka tāpat kā citi mannozi saistošie C tipa lektīni, kas atrodami uz imūnšūnām, langerīns saistās pie mikroorganismiem ar mannozi saturošiem virsmas glikokonjugātiem, tostarp mikobaktērijām un sēnītēm, lai gan līdz šim pierādīta tikai saistība ar *Candida albicans* (Takahara et al., 2004).

2.4. Oksidatīvais stress un tā ietekme uz ādu: antioksidanti un selēns

OS ir organisma stāvoklis, kurā pastāv AO un prooksidantu disbalanss, jo BR tīrā summa pārsniedz organisma antioksidatīvās spējas. Pārmērīgs BR daudzums audos izraisa lipīdu peroksidāciju, obaltumvielu oksidāciju un tiešu DNS bojājumu (Zhou et al., 2011; Grattagliano et al., 2008). ROS ādā veidojas vairāku atšķirīgu procesu rezultātā, no kuriem UV starojuma radītais eksogēnais stress ir galvenais ROS rašanās cēlonis saules starojumam pakļautā ādā. Citi svarīgi veicinošie faktori ir plazmas membrānas olbaltumvielas, piemēram, arvien augošais NADPH oksidāžu daudzums. Turklāt kā endogēnais ROS avots ir jāņem vērā H₂O₂, kas veidojas kā taukskābju sadalīšanās blakusprodukts peroksisomās. To var attiecināt arī uz ROS veidošanos fagocītu oksidatīvajā sprādziena laikā iekaisuma reakcijās, kā arī uz dažādu citosola enzīmu, piemēram, ciklooksigenāžu, aktivitāti. Lai gan visi šie avoti veicina šūnas kopējo oksidējošo slogu, lielākā daļa no tiem šūnu ROS (aptuveni 90 %), kas veidojas šūnās neatkarīgi no UV starojuma radītā stresa, veidojas mitohondrijos kā traucētas mitohondriju elpošanas blakusprodukti. Mitohondriju radītie oksidanti tiek uzskatīti par galveno oksidatīvā bojājuma avotu, kas pastiprinās ar vecumu.

AO loma pacientiem ar priekšlaicīgu ādas fotonovecošanos un vēža attīstību ir ļoti aktuāla. Lielbritānijas dati par melanomas (ļaunderīgā ādas vēža veids) izplatību (5800 jauni gadījumi katru gadu un 28 letāli gadījumi no 100 melanomām) liek nopietni aizdomāties par negatīvu UV starojuma ietekmi uz ādu. Pētījumā tiek minēta tieši AO selēna svarīgā loma onkogēnā

transformācijā, taču skaidri selēna loma aprakstīta 2013. gadā, kas apliecināja, ka selēns ir nepieciešams un spēcīgs AO un ādas melanomas prevencijas komponents (Cassidy and Fain, 2013). Ir pētījumi, kas apstiprina hipotēzi, ka zemam selēna līmenim ir saistība ar MetS (Arnaud et al., 2012; Zulet et al., 2009; Puchau et al., 2009). Selēns ir ikdienas diētas komponents ar spēcīgām antioksidanta īpašībām, kas ikdienas produktos pārsavarā ir liellopu gaļā, jēra, putnu gaļā, jūras produktos (mencās, siļķēs, sardīnēs), pienā, sīpolos, olās, pupās, pilngraudu produktos. Dienā rekomendējams uzņemt aptuveni 55–60 mikrogramus, pēc *food and nutrition board* (FDA). Selēns uzskatāms par mikroelementu, kas ir ļoti būtisks cilvēka metabolismā. Jauni pētījumi ir parādījuši šī elementa nozīmi cilvēku veselībā. (Rayman, 2000). Tam ir gan antioksidējošas, gan pretiekaisuma īpašības, pateicoties no selēna atkarīgajai glutaciona peroksidāzei, kas var samazināt ūdeņraža peroksīdu, lipīdu un fosfolipīdu hidroperoksīdus un reaktīvos skābekļa radikāļus. Šim mikroelementam var būt aizsargājoša loma pret sirds un asinsvadu slimībām, jo glutaciona peroksidāze spēj samazināt lipīdu oksidatīvo modifikāciju un samazināt trombocītu agregāciju. Tā kā parasti selēns ievērojamos daudzums ir atrodams imūnajos audos un tam ir liela ietekme uz imūnsistēmu, selēna deficītu pavada imūnkompetences zudums (Brenneisen, Steinbrenner and Sies, 2005).

Zems selēna daudzums uzturā palielina organisma jutību pret slimībām, kuras ir saistītas ar OS. Vairāki *in vitro* dzīvnieku modeļi un pētījumi ar cilvēkiem ir parādījuši apgrieztu savstarpēju saistību starp uzņemto selēna daudzumu un vēža risku (Bera et al., 2013). Selēna pozitīvā ietekme ir, ne tikai pateicoties selenoproteīniem, kuriem ir ļoti svarīga loma antioksidatīvā aizsardzībā un šūnu reducējošas vides saglabāšanā, bet arī pateicoties dažu DNS glikozilāzes aktivitāšu pieaugumam, kas ir iesaistītas oksidatīvā DNS bojājuma reparēšanā, kā arī DNS reparēšanas ceļos, kurus mediē p53, BRCA1 un Gadd45. Selēns un selenoproteīni ir būtiski keratinocītu funkcijai un ādas attīstībai.

Selenoenzīmu trūkums peles epidermā izraisa ādas un matu folikulu novirzes, priekšlaicīgu ādas novecošanos un pat priekšlaicīgu nāvi (Sengupta, Lichti and Carlson, 2010).

2.5. Āda, metaboliskais sindroms un ksenobiotikas

MetS ietekmē ādu dažādos veidos, visplašāk atzītā MetS patofizioloģijas teorija ir insulīna rezistence. MetS gadījumā ir raksturīga viscerālā tipa aptaukošanās, insulīna rezistence, dislipidēmija un hipertensija (5.1. tab.). AO jeb vielas, kas novērš citu molekulu oksidēšanos, tiek uzskatīti par uztura faktoriem, kas tiek asociēti ar MetS (Gregorio et al., 2016). Ir konstatēts, ka AO lietošana mazina OS un iekaisuma reakciju, kam ir nozīme MetS attīstībā (Soory, 2012).

Muskuļu, tauku un aknu šūnas nereaģē pareizi uz hormonu insulīnu un nespēj vairs viegli absorbēt glikozi no asinsrites. Aizkuņģa dziedzeris beta šūnas sākotnēji mēģina ražot vairāk insulīna, lai sasniegtu euglikēmiju. Laika gaitā aizkuņģa dziedzeris nespēj tikt līdzīgi augošajam pieprasījumam pēc insulīna un asinsritē uzkrājas liekā glikoze (Leroith, 2012). Jebkura patofizioloģiska disfunkcija, kas izraisa vielmaiņas kontroles zudumu organismā, var izraisīt ādas slimību. Tauku uzkrāšanās MetS ar progresējošu insulīna rezistences attīstību izraisa hormonālu pārmaiņu kaskādi, piemēram, ietekmi uz augšanas hormonu. Hormoni sinerģiski seko autoregulācijas principam. Tādējādi ir sagaidāms, ka pasliktināsies no androgēniem atkarīgo ādas slimību stāvoklis, piemēram, akne vai androgēnas alopecijas. IR parādās jau vairākus gadus pirms diabēta diagnozes noteikšanas. Hiperinsulinēmija aktivizē insulīna augšanas faktora-1 (IGF-1) receptorus, kas atrodas ādas fibroblastos un keratinocītos, tieši un netieši stimulējot to proliferāciju. IR izraisa ādas izmaiņas parādās jau ļoti agri, tāpēc IR ādas izmaiņu atpazīšana ir drošs un vienkāršs insulīna rezistences noteikšanas veids.

Ādas izmaiņas, kas attīstās IR dēļ, sniedz iespēju ātri, uzticami, vienkārši un droši noteikt insulīna rezistenci (González-Saldivar, 2017). Tiek pētīts interesants ādas funkcijas aspekts, kas ir saistīts ar tās spēju izvadīt no ķermeņa ksenobiotiķus, atbrīvoties no BR ar AO palīdzību un pat samazināt holesterīna līmeni ar ekskrēcijas funkciju, ko veic sviedru un tauku dziedzeri.

Pamatā ROS jeb reaktīvās skābekļa formas ir ksenobiotiķu sabrukšanas produkti, metabolīti. Pie ksenobiotiķiem pieder medikamenti, kosmētiskie līdzekļi, ķīmiskās vielas, artificiālie vitamīni, diētas komponenti. Ksenobiotiķi organismā tiek metabolizēti 2 fāzēs:

1. Ar monooksigenāzes starpniecību citohromu P450s.
2. Hidroksilētās molekulas konjugē hidrofilās substances glutations, glikuronskābe vai arī tas notiek metilācijas procesa rezultātā.

Āda kā lielākais cilvēka orgāns piedalās ksenobiotiķu eliminācijā un degradācijā, kas ietver endogēno substrātu metilāciju, konkurējot par brīvām labilām metilgrupām. Pie lipīdu metabolisma ir paaugstināta vajadzība organismā pret metilgrupām, tā rezultātā attīstās aknu steatoze ar sekojošu dislipidēmiju, metaboliskais sindroms var būt kā papildu ietekmējošais faktors.

Nesabalansētība starp ROS produkciju un ķermeņa kopējo antioksidantu aizsardzības sistēmu MetS gadījumā var būt pārmērīgas ksenobiotiskas iedarbības (tostarp augstas koncentrācijas uztura bagātināšana ar sintētiskajiem vitamīniem) kombinācija, kā arī samazināta ksenobiotisko līdzekļu detoksikācija/eliminācija dzīvesveida un ģenētisko faktoru dēļ. Ādas antioksidējošā un ekskrēcijas funkcija var būt viena no galvenajām organisma antioksidantu aizsardzības sistēmas sastāvdaļām, un tai ir svarīga loma aizsardzībā no MetS.

Precīzāk, āda ekspresē visus ksenobiotisko izvadīšanas sistēmu fermentus, piemēram, citohroma P450 enzīmus, flavīna atkarīgo monooksigenāzi, monoamīnoksidāzi, alkohola dehidrogenāzi un aldehīda

dehidrogenāzi. Papildus tam āda ir “aprkota” ar zāles metabolizējošām sistēmām un antioksidantu enzīmiem. Ir atklāts, ka sviedri satur lielu daudzumu toksisku vielu. Turklāt sebums, kas ir ādas aizsargbarjera un sastāv no taukskābēm, attīra organismu no liekā holesterola daudzuma (Zhou et al., 2012). Sebuma produkcijas potenciālā loma lipīdu un holesterola homeostāzē, tā ietekme uz MetS un saistība ar vairākām ādas slimībām (*acanthosis nigricans*, akne, apdegumi) ir ļoti daudz apspriesta (Zhou et al., 2012).

Metaboliskā sindroma (MetS) gadījumā ir raksturīga viscerālā tipa aptaukošanās, insulīna rezistence, dislipidēmija un hipertensija. MetS tiek uzskatīts par galveno cēloni mūsdienu 2. tipa cukura diabēta un sirds un kardiovaskulāro slimību izplatībai (PANS, Esposito, 2012).

AO jeb vielas, kas novērš citu molekulu oksidēšanos, tiek uzskatīti par uztura faktoriem, kas tiek asociēti ar MetS (Gregorio et al., 2016). Ir konstatēts, ka AO lietošana mazina OS un iekaisuma reakciju, kam ir nozīme MetS attīstībā (Soory, 2012).

2.5.1. Ar MetS biežāk asociētās ādas slimības

Dažas iekaisīgas ādas slimības, piemēram, vitiligo, skleroderma, recidivējošs aftisks stomatīts, Behčeta slimība, rozācija, lipoīdā nekrobioze, gredzenveida granuloma, fibroepiteliālie polipi, holoderma un erupctīvas ksantomas, iespējams, ir saistītas ar MetS (Seremet and Gurel, 2018). Pēc Dirisa (Diris et al., 2003) datiem, visbiežāk neiekaisīgas ādas slimības, kas tiek novērotas metabolisma traucējumu rezultātā, ir ādas kseroze, diabētiskā dermopātija, sejas eritroze, ksantohromija, pseidoskleroderma, *acanthosis nigricans*.

2.5.2. *Acanthosis nigricans*

Acanthosis nigricans ir ādas dermatoze, kurai ir raksturīga sabiezēta āda, hiperpigmentācija kakla, apkakles zonā, kā arī mitrās un ar sviedru dziedzeriem bagātās vietās (ingvinālais rajons, paduses).

Acanthosis nigricans patoģenēzes pamatā ir insulīna receptoru funkcijas traucējumi vai autoantivielas pret insulīna receptoriem. MetS gadījumā novēro paaugstinātu augšanas hormonu ekspresiju, kas izraisa pastiprinātu keratinocītu un fibroblastu proliferāciju (PANS, Kluczynik, 2012).

MetS negatīvi iespaido ādu, pasliktinot tās pamatfunkcijas (Akase et al., 2012). Ādā tiek akumulētas šūnas ar molekulārām novecošanās īpatnībām, šo šūnu daudzums var sasniegt līdz pat 15 % no kopējo šūnu daudzuma.

2.6. Ādas novecošanās indekss

2.6.1. Ādas izmaiņas brīvo radikāļu ietekmē

Viena no pēdējo gadu produktīvākajām teorijām ir brīvo radikāļu novecošanās teorija, ko gandrīz vienlaikus izvirzīja *Harman* (1956; Harman, 1994) un *Emanuel* (1958; Tabas et al., 2007). Šīs izmaiņas ietver daļēji uzbriedušus mitohondrijus ar neparastām un retām kristām, kristu lieluma un formas heterogenitāti vai to neesamību, kā arī gandrīz pilnīgu zarotu mitohondriju trūkumu (Brantova et al., 2006). Mitohondriju raksturīgās morfoloģiskās pazīmes novecojušās šūnās var inducēt arī mitohondrijos no citādi normāliem kultivētiem primārajiem ādas fibroblastiem, inhibējot enerģijas metabolismu ar zālēm, kas vērstas pret elpošanas ķēdi (Guillery et al., 2008).

Ir zināms, ka priekšlaicīgu ādas novecošanu brīvo radikāļu bojājumu dēļ var inducēt arī ultravioletais (UV) bojājums (Gentleift, 2019). UV starojuma izraisīto mtDNS mutāciju klātbūtne un no tās izrietošais apburtais loks ar turpmāku mtDNA mutāciju palielināšanos rada situāciju, kas atgādina defektīvu

dzinēj spēku, kura gadījumā nepietiekama enerģijas ražošana izraisa hronisku oksidatīvo stresu.

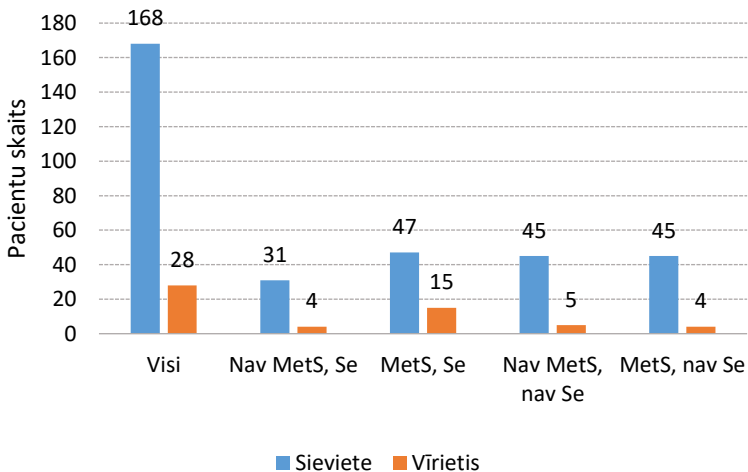
Eksperimentālos un klīniskos pētījumos ir pierādīts, ka traucēta T šūnu reaktivitāte, citokīnu ražošana un citas imunoloģiskas reakcijas ir saistītas ar ādas izskata izmaiņām, tostarp dažādu saslimšanu veidošanos un ādas priekšlaicīgu novecošanos (Zegarska, 2010).

3. Rezultāti

3.1. Aprakstošā statistika

3.1.1. Aprakstošā statistika kvalitatīvajiem datiem

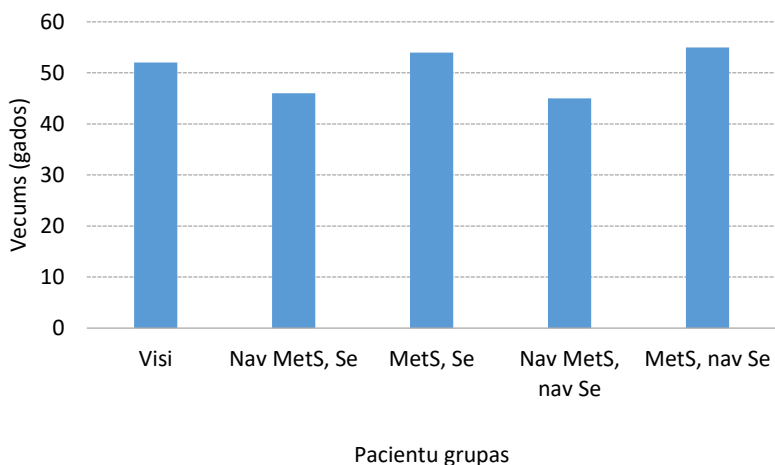
Pavisam tika apsekotas 168 sievietes un 28 vīrieši: 85 pacienti bez MetS un 111 ar MetS. Grupā, kuras pacientiem nav MetS un ir doti Se preparāti, ir 31 sieviete un 4 vīrieši (n = 35). Grupā, kam ir MetS un doti Se preparāti, ir 47 sievietes un 15 vīrieši (n = 62). Grupā, kam nav MetS un nav doti Se preparāti, ir 45 sievietes un 5 vīrieši (n = 50). Grupā, kam ir MetS un nav doti Se preparāti, ir 45 sievietes un 4 vīrieši (n = 49). Pacientu sadalījums ir redzams 3.1. att. Pētāmās grupas ir salīdzināmas un viendabīgas pēc vecuma, dzimuma un UV indeksa.



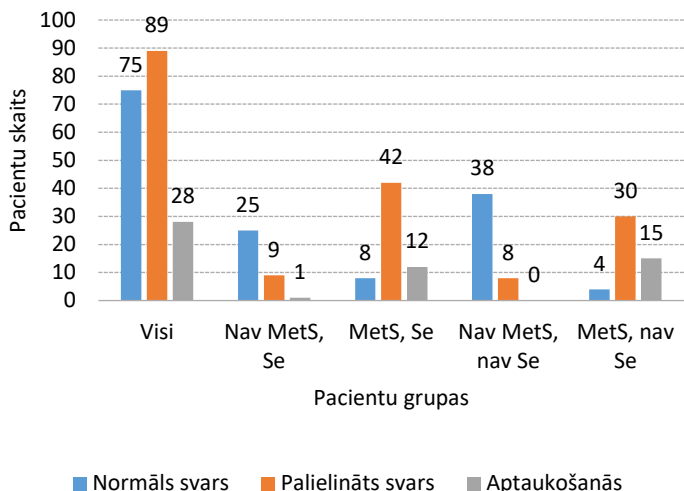
3.1. attēls. Pacientu sadalījums grupās

3.1.2. Aprakstošā statistika kvantitatīvajiem datiem

Kvantitatīvajiem datiem tika aprēķinātas frekvences un attēlotas grafiski (piemēram, vecumam gados). Visiem pacientiem mediāna (stabiņa augstumā) ir 52 gadi, pirmā kvartile (nogriežņa apakšējais punkts) – 44 gadi, trešā kvartile (nogriežņa augšējais punkts) – 57 gadi (3.2. att.). Savukārt grupā, kam nav MetS un ir veikta selēna substitūcija, ir attiecīgi 46, 38 un 54 gadi. Grupā, kam ir MetS un veikta Se substitūcija, ir attiecīgi 54, 47 un 58 gadi. Grupā, kam nav MetS un nav veikta selēna substitūcija, ir attiecīgi 45, 34 un 54 gadi. Grupā, kam ir MetS un nav veikta Se substitūcija, ir attiecīgi 55, 47 un 58 gadi.



3.2. attēls. **Statistiskie rādītāji vecumam (gados)**



3.3. attēls. Svars pacientu grupās

Vidējais svars MetS pacientiem ir augstāks par kontrolgrupas vidējo svaru (3.3. att.), vidējais vidukļa apkārtmērs MetS grupā ir 95 cm, bet MetS pacientiem, kas lietoja selēnu, – 100 cm, savukārt kontrolgrupas pacientiem mediānais vidukļa apkārtmērs bija 78 cm tiem, kas lietoja selēnu, un 82 cm tiem, kas nelietoja.

3.1. tabula

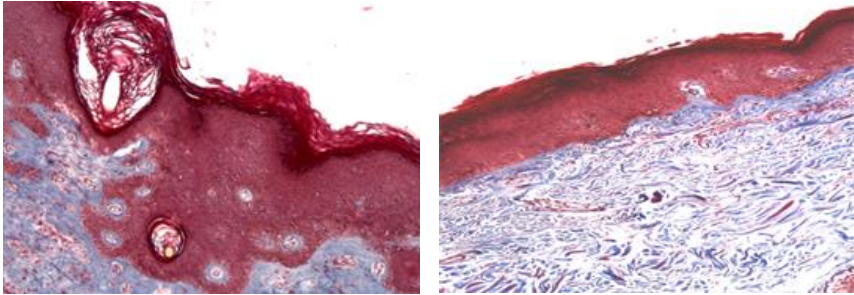
Histoloģiskie dati pacientiem ar MetS un bez MetS

Histoloģiskās īpašības	Pacienti ar MetS (n = 27)	Pacienti bez MetS (n = 23)
Epidermas biezums, mm	0,71	0,56
<i>Stratum corneum</i> biezums, mm	0,18	0,16
<i>Stratum spinosum</i> (rindu daudzums)	9	7,5
<i>Stratum granulare</i> (rindu daudzums)	2,25	1,75

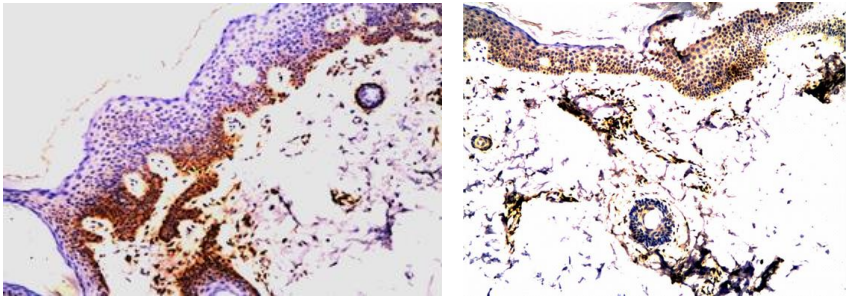
3.1. tabulas turpinājums

Histoloģiskās īpašības	Pacienti ar MetS (n = 27)	Pacienti bez MetS (n = 23)
Bazālās membrānas biezums, mm	14	11
Adipocītu vidējais apjoms, mm	0,33	0,3
Dermas elastoze	n = 9	n = 3
Perivaskulāra infiltrācija	n = 26	n = 13
Sašaurinājums dermas kapilāros	n = 26	n = 13

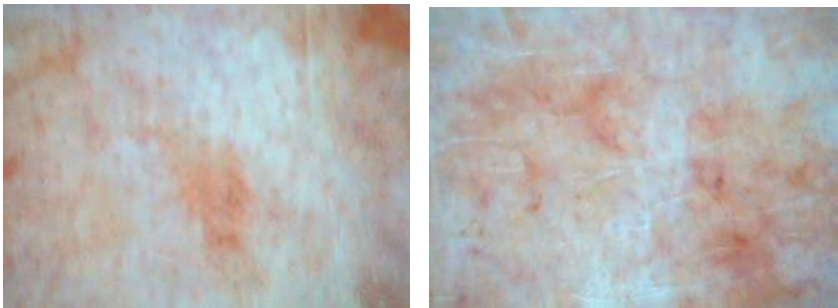
MetS grupas pacientiem bija šādi histoloģiski atradumi (3.1. tab.): akantoze jeb sabiezējums *stratum spinosum* slānī, dermas-epidermas jūgle ir saplacināta, adipocīti hipodermas slānī – palielināti, kolagēna šķiedras – biezas. Pacientiem MetS grupā konstatēta elastoze virspusējā dermā. Imūnreaktīvais Bcl-2 proteīns kumulējās bazālajās šūnās ar vidējo apjomu 39,1 uz 100 bazālajām šūnām, savukārt grupā bez MetS – 6,4. Vidējais biezums epidermā ir 0,71 mm (ar MetS) un 0,46 mm (bez MetS). *Stratum spinosum* biezums – 0,48 mm (ar MetS) un 0,25 mm (bez MetS). *Stratum corneum* ir 0,18 mm (ar MetS) un 0,16 mm (bez MetS). Dendrītisko šūnu kumulāciju apkārt iekaisuma šūnu perēklim varēja novērot MetS pacientiem ar akantozi un hiperkeratozes pazīmēm (3.4. att.). Dažāds kumulācijas apjoms Birbeka granulām tika konstatēts MetS grupā, kā arī dažu CD1a⁺ šūnu migrācija papillārajā dermā. Palielināts adipocītu apjoms tika novērots līdz 0,13 mm, fibroze dziļo kapilāru struktūrā MetS pacientiem, kā arī apoptotiskā proteīna Bcl-2 kumulācija dermā (3.5. att.).



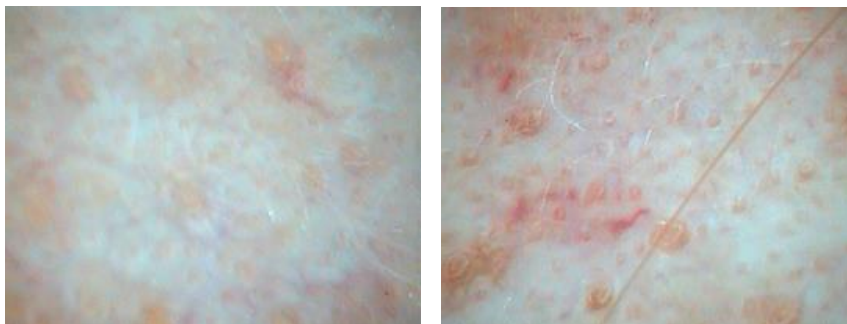
3.4. attēls. Agrīnās ādas izmaiņas pacientiem ar MetS: hiperkeratoze – kreisajā pusē, dermas elastoze – labajā pusē (100× Masona trihroma metode)



3.5. attēls. Apoptotiskā proteīna Bcl-2 ekspresija pacientiem ar MetS kreisajā pusē, perivaskulāra infiltrācija ap asinsvadu labajā pusē (*EnVision* metode, *DakoCytomation*, 100×)



3.6. attēls. Optiskā dermatoskopija dispigmentācijas vizualizācijai: āda pacientiem bez MetS – kreisajā pusē, āda pacientiem ar MetS – labajā pusē (*Skin analyzer*, *Aramhuvis Co*, 60×)



3.7. attēls. **Dermatoskopijas atrade teleangiektāzijām: āda pacientiem bez MetS – kreisajā pusē, āda pacientiem ar MetS – labajā pusē**

Attiecībā uz ādas optisko dermatoskopiju pacientiem ar MetS ir spilgtāk redzama dispigmentācija ādā, pārsvarā hiperpigmentācija un pigmenta kumulācija (3.1. tab.), daudz vairāk tiek vizualizēta teleangiektāzija un virspusējie kapilāri (3.6. un 3.7. att.).

3.2. Atkarīgu izlašu testi

Mērķis bija izpētīt, vai pēc selēna preparātu lietošanas pacientu ādas stāvoklis un laboratoriskie rādītāji uzlabojas (galvenais – pacientiem ar MetS). Lai to pārbaudītu, tika lietoti atkarīgu izlašu testi: kvalitatīvajiem datiem – Maknemara tests un kvantitatīvajiem datiem – Vilkoksona tests.

3.2.1. Maknemara testa rezultāti

Maknemara tests var tikt izpildīts tikai dihotomiskiem (0 – nē, 1 – jā) datiem. Testa izpildei nepieciešams izveidot 2×2 kontingences tabulu (3.2. tab.).

Maknemara testa 2×2 kontingences tabula

	Tests 2 pozitīvs	Tests 2 negatīvs	Kopā rindā
Tests 1 pozitīvs	a	b	a + b
Tests 1 negatīvs	c	d	c + d
Kopā kolonnā	a + c	b + d	n

Maknemara testa nulles hipotēze $p_b = p_c$, alternatīvā hipotēze $p_b \neq p_c$ (*McNemar's test*, 2020). Testā aprēķina χ^2 (*McNemar test*, 2014).

$$\chi^2 = \frac{(b - c)^2}{(b + c)} \quad (3.1)$$

Nosaka χ^2 vērtībai atbilstošo p vērtību, izmantojot *MS Excel* vai *SPSS*.

Maknemara tests tika izpildīts grupās: kam tika veikta biopsija, nav MetS un tika veikta Se substitūcija ($n = 7$) un kam ir MetS un tika veikta selēna substitūcija ($n = 25$). Pacientu, kam nav MetS un tika doti selēna preparāti, ir maz ($n = 7$), un pēc šāda skaita nav iespējams spriest par populāciju. Tāpēc tiks analizēta grupa, kas šajā pētījumā ir svarīgāka – kam ir MetS un tika doti selēna preparāti ($n = 25$).

3.2.2. Vilksoksona testa rezultāti

Vilksoksona testu (3.3. tab.) lieto, lai salīdzinātu kvantitatīvus datus, kas nav normāli sadalīti vai kārtas skalā pirms un pēc eksperimenta. Vilksoksona tests tika izpildīts grupās: kam nav MetS un tika doti selēna preparāti ($n = 35$) un kam ir MetS un tika doti Se preparāti ($n = 62$). Kolonnā p dotas Vilksoksona testa p vērtības, statistiski nozīmīgām atšķirībām p vērtība ir treknrakstā.

Tiem, kam ir MetS un tika dots selēns pēc terapijas:

- pazeminājās mediānais ādas novecošanās indekss ($Me_1 = 6$, $Me_2 = 5,5$);
- pazeminājās kopējā holesterīna līmeņa mediānas;
- samazinājās ZBL mediāna;
- pieauga ABL mediāna;
- pieauga D vitamīna līmeņa mediāna;
- pieauga selēna un SOD līmeņa mediānas;
- pazeminājās mediānā ādas elastozes pakāpe ($Me_1 = 2$, $Me_2 = 1$).

3.3. tabula

Vilkoksona testa rezultāti

Mainīgais lielums	n	Pirms terapijas			Pēc terapijas			p
		Q ₁	Me ₁	Q ₃	Q ₁	Me	Q ₃	
Nav MetS, ir Se								
Ādas novecošanas indekss	35	4,0	5,0	7,0	4,6	5,2	5,9	<0,001
Kopējais holesterīns I, mmol/	35	4,5	5,2	5,9	4,6	5,2	5,9	0,009
ZBL, mmol/l	35	2,5	2,9	3,3	1,5	1,8	2,2	<0,001
ABL, mmol/l	35	1,4	1,6	1,9	4,5	4,9	5,5	<0,001
Glikoze, mmol/l	35	4,9	5,0	5,6	4,7	4,9	5,6	0,080
D vitamīns, ng/mL	35	18,1	30,6	34,3	18,1	30,6	33,5	0,125
CRO, mg/L	35	0,1	0,3	1,3	0,1	0,3	1,3	0,180
MDA, mM	35	2.82	2,5	2,7	2,2	2,3	2,5	0,018

3.3. tabulas turpinājums

Mainīgais lielums	n	Pirms terapijas			Pēc terapijas			P
		Q ₁	Me ₁	Q ₃	Q ₁	Me	Q ₃	
Nav MetS, ir Se								
Selēns mg/L	35	57,0	61,0	65,0	88,0	97,0	98,0	<0,001
SOD, U/g Hb	35	1545,0	1701,0	1824,0	1769,0	1922,0	2021,0	0,001
Elastozes pakāpe	7	0,0	1,0	1,0	0,0	1,0	1,0	1,000
Langerhansa šūnas	7	2,0	9,0	16,0	2,0	10,0	15,0	1,000
MetS, Se								
Ādas novecošanas indekss	62	4,0	6,0	6,3	5,4	5,5	6,9	0,022
Kopējais holesterīns I, mmol/	62	5,4	6,1	6,9	5,4	6,0	6,9	0,004
ZBL, mmol/l	62	3,1	3,6	4,3	1,5	1,7	2,6	<0,001
ABL, mmol/l	62	1,4	1,6	1,9	4,5	5,0	5,5	<0,001
Glikoze, mmol/l	62	4,9	5,3	5,8	4,9	5,2	5,7	0,237
D vitamīns, ng/mL	62	15,2	25,8	30,6	16,6	27,0	30,7	0,013
CRO, mg/L	62	0,4	1,4	3,1	0,3	1,4	2,9	0,109
MDA, mM	62	3,2	2,99	4,1	2,9	2,9	3,7	0,062
Selēns mg/L	62	73,8	80,5	90,3	111,0	117,0	124,5	<0,001
SOD, U/g Hb	62	1545,0	1439,5	1508,0	1452,0	1577,5	1698,0	<0,001
Elastozes pakāpe	25	2,0	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0	0,014
Langerhansa šūnas	25	22,0	27,0	33,5	22,0	27,0	33,5	0,046

3.3. Ādas novecošanās indekss. Jauns brīvo radikāļu izraisīta bojājuma noteikšanas paņēmiens

Jaunā metode ļautu starp praktiski veselīgiem pacientiem laikus identificēt tos, kuriem jau ir attīstījies brīvo radikāļu izraisīts bojājums, un laikus veikt profilaktiskus un terapeitiskus pasākumus, kamēr šī profilakse joprojām ir efektīva. Metode ir informatīva, uzticama, neinvazīva, viegli reproducējama. Šo metodi var izmantot vienu pašu, kā arī kombinācijā ar jau zināmām skalām ādas novecošanās novērtēšanai.

3.3.1. Apskate

Pacienta vizuālās apskates procedūra ilgst aptuveni 7–9 minūtes. Vizuālās pārbaudes laikā tiek noteikts ādas dermatoloģiskais stāvoklis, tās vispārējais stāvoklis (krāsa, turgors, lobīšanās), kā arī identificētas galvenās problēmas (raupjums, palielinātas poras, mikroreljefa izmaiņas, grumbas utt.).

3.3.2. Ādas novecošanās indeksa prognozēšana atkarībā no to ietekmējošajiem faktoriem

Ādas novecošanās indeksa prognozēšanā atkarībā no to ietekmējošajiem faktoriem tika izmantota multiplā lineārā regresija. Modelis balstīts uz šādiem pieņēmumiem:

- Jaunam, ar zemu asinsspiedienu, slaidam, ar augstu Se rādītāju, zemu MDA, zemu SOD ir ļoti labs ādas stāvoklis ($\bar{ANI} = 0$).
- Vecam, ar augstu asinsspiedienu, korpulentam, ar zemu Se rādītāju, augstu MDA, augstu SOD, ir ļoti slikts ādas stāvoklis ($\bar{ANI} = 11$).

Modeļa izteiksme ir šāda, un determinācijas koeficients R^2 tuvs
maksimālajai vērtībai 1:

$$y = (0,099 \times (x_1 - 21) + 0,024 \times (x_2 - 80) + 0,129 \times (x_3 - 18,5) - 0,031 \times \\ \times (131 - x_4) + 1,219 \times (x_5 - 1145) + 0,001 \times (x_6 - 1145)) \times (11 \div 14), \\ R^2 = 0,996 \tag{3.2}$$

x_1 – vecums, gadi

x_2 – sistoliskais asinsspiediens

x_3 – ĶMI

x_4 – Se

x_5 – MDA

x_6 – SOD

y – ĀNI

4. Diskusija

Pētījuma rezultāti ir devuši iespēju atrisināt pētījuma uzdevumus. Ir iegūts ĀNI, kas ir diagnostikas paņēmieni, izvērtējot OS un ādas novecošanās mijiedarbību, kā arī vizualizē iekšējo asinsvadu iespējamu novecošanos un KVS risku. Ādas kseroze un dispigmentācija, kuru novēro MetS gadījumā, liecina par OS un hronisku latentu iekaisumu ādā, kas prognostiski norāda uz paātrinātu ādas novecošanās procesu ne tikai vizuāli, bet arī morfoloģiski. Ar dziļāku ādas struktūras izpēti un iegūstot materiālu, izmantojot ādas *punch* biopsiju, ir novērota ādas elastoze un dermas kapilāru sašaurinājums, kā arī imūnreakcija ar limfocitāru infiltrāciju MetS grupā, kas, analizējot ar OS parametriem, savstarpēji ir saistīti. Tas apliecina domu par sistēmisku bojājumu MetS gadījumā, ne tikai vielmaiņas procesu ietekmi, bet arī ādas funkcionālo un fizioloģisko stāvokli.

Šī pētījuma atrades atspoguļotas arī patentos par KVS riska noteikšanu:

- LV15058 B. Augsta kardiovaskulārā riska rādītāju noteikšanas paņēmieni centrālās aptaukošanās gadījumā Baltijas jūras reģiona pacientiem. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Patenta publ. datums 20.04.2016. Pieteikuma Nr. P-15-49 (LV), pieteikuma datums 27.05.2015., pieteikuma publicēšanas datums 20.10.2015.
- PCT pieteikums WO 2016/190723 (A1). The determination method of the high cardiovascular risk indicators in the case of central obesity in patients from Baltic sea region. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Pieteikuma publicēšanas datums 01.12.2016.

Secinājumi

1. Apsekojot 196 pacientus ar MetS, tika konstatētas šādas nozīmīgas atšķirības: vidukļa apkārtmērs, ĶMI, ZBL līmenis, triglicerīdu līmenis, arteriālais asinsspiediens. Kopējās lentigo tipa pigmentācijas daudzums MetS pacientiem ir augstāks, salīdzinot ar kontrolgrupas pacientiem. *Acanthosis nigricans* pazīmes biežāk tika konstatētas MetS pacientiem. Ādas mikroreljefs MetS pacientiem ir nelīdzens, salīdzinot ar kontrolgrupu. Ādas sausums jeb kseroze MetS pacientiem ir augstāka. **Minētais liecina par kumulatīvu MetS novecošanās procesu uzkrāšanos** un MetS ādas simptomātikas agrīnu attīstību, proti, ādas simptomātika varētu tikt izmantota kā papildu kritērijs MetS pacientu savlaicīgā atpazīšanā un novērošanā.
2. Pacientiem ar MetS atšķirībā no kontrolgrupas ir novērotas šādas ādas **novecošanās pazīmes**: dispigmentācija, seborejiska keratoze un teleangiektāzija, aktīniska keratoze un *acanthosis nigricans* atrade (hiperpigmentācija, ādas sabiezējums, papilomatoze). No **dermoskopiskām** pazīmēm ir novērojāmi paplašināti asinsvadu kapilāri, pastiprināts pigmentsa tīklojums. Savukārt histoloģiskā atrade ir ādas hiperkeratoze un epidermas sabiezējums, kā arī dermas elastoze ar ekstracelulārā matriksa degradāciju. Konstatēta perivaskulāra infiltrācija ar dermas kapilāru sašaurinājumu. Summējot un analizējot novecošanās pazīmes ādā, dermoskopiskas izmaiņas un OS parametrus, tika izstrādāts **ādas novecošanās indekss (ĀNI)**, kas MetS pacientiem ir augstāks, salīdzinot ar kontrolgrupu ($p = 0,005$).
3. Lietojot selēnu, mūsu izstrādātais ĀNI MetS pacientiem ir mazinājies: bija 6,0, palika 5,5 ($p = 0,003$); arī biopsijas paraugu patoloģiska izmeklēšana liecina par selēna efektivitāti – elastoze pakāpe mazinājusies. Samazinājās teleangiektāzijas izteiktība. Pēc selēna substitūcijas samazinājās perivaskulāra infiltrācija, dermas mononukleāro šūnu infiltrācija ekstracelulārā matriksa degradācija, dermas kapilāru sašaurinājums.

Atrastais liecina par efektīvu selēna antioksidatīvo iedarbību: selēns, būdams spēcīgs antioksidants, novērš brīvo radikāļu izraisītu ādas bojājumu, mazina OS ādā, pasargā ādu no priekšlaicīgas novecošanās brīvo radikāļu bojājuma dēļ.

4. OS īpatnības pacientiem ar MetS raksturojas ar paaugstinātu MDA un SOD aktivitātēm. Tika pierādīta MDA un SOD kā agrīnu biomarkieru nozīme MetS pacientu novērošanā, ārstēšanā un MetS profilaksē. ĀNI sastāvā ir integrētas savstarpējas sakarības starp ādas izmaiņām un brīvo radikāļu bojājumu. MetS gadījumā ĀNI (Me = 6) ir augstāks, salīdzinot ar kontrolgrupu (Me = 4; $p = 0,005$). Ņemot vērā OS īpatnības MetS pacientiem, proti, MDA, SOD un brīvo radikāļu izraisītas ādas novecošanās pazīmju (kseroze, lentigo, *acanthosis nigricans*) savstarpējās likumsakarības, tiek secināts, ka MDA un SOD ir nozīmīgi pacientu novērošanā, ārstēšanā un MetS profilaksē.

Praktiskās rekomendācijas

1. Perorāla organiska seleno-L-metionīnu substitūcija uzlabo ādas klīniskās pazīmes, tostarp mazina hiperpigmentāciju, ādas apsārtumu un mikroreljefu. Atjauno ādas turgoru un samazina hronisku latentu iekaisumu ādā. Preventīvi mazina seborejisko keratožu un aktīnisko keratožu veidošanos ādas fotobojājuma rezultātā.
2. MetS un ādas klīniskās izpausmes kopā ar oksidatīvā stresa (SOD, MDA) parametriem un ĀNI var būt labs indikators laikus pieņemtiem profilaktiskiem pasākumiem KVS riska mazināšanai.
3. Izgudrotais ĀNI dermatoloģijas praksē var palīdzēt skaidri izvērtēt ādas novecošanās pazīmju smagumu, kā arī ĀNI kopā ar MetS klātbūtni var traktēt kā papildu vērtību KVS riska vizualizācijai.
4. Lai sasniegtu terapeitisko efektu fotobojājuma mazināšanai, rekomendē kompleksi lietot seleno-L-metionīnu perorāli kopā ar lokālu aplikāciju uz ādas krēma veidā. Perorāli lietojamais selēns ir ieteicams ziemas sezonā, kad ir iespējams AO deficīts pārtikā, savukārt selēnu saturošu krēmu ieteicams lietot lokāli vasarā, kad ir augsta ultravioletā starojuma iedarbība.

Publikācijas par pētījuma tēmu

1. LV 15405 B1; Ādas neoplastisko bojājumu, ko izraisa brīvo radikāļu bojājumi, attīstības riska noteikšanas paņēmieni (*Method for detection of risk of development of skin neoplastic damage caused by damage caused by free radicals*). Latvian Republic patent 2020 Aug 20.
2. LV15082 B. Krēms sejas ādas, kakla un dekoltē zonas epidermālās lipīdās barjeras atjaunošanai pacientiem ar metabolisko sindromu. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Patenta publ. datums 20.04.2016. Pieteikuma Nr. P-15-90 (LV), pieteikuma datums 24.08.2015. Pieteikuma publikācijas datums 20.12.2015.
3. PCT pieteikums WO 2017/034384 (A1). *Epidermal lipid barrier restoring cream for facial skin, neck and décolleté area for metabolic syndrome patients*. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Pieteikuma publikācijas datums 02.03.2017.
4. LV15058 B. Augsta kardiovaskulārā riska rādītāju noteikšanas paņēmieni centrālās aptaukošanās gadījumā Baltijas jūras reģiona pacientiem. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Patenta publ. datums 20.04.2016. Pieteikuma Nr. P-15-49 (LV), pieteikuma datums 27.05.2015. Pieteikuma publikācijas datums 20.10.2015.
5. PCT pieteikums WO 2016/190723 (A1). *The determination method of the high cardiovascular risk indicators in the case of central obesity in patients from Baltic sea region*. Īpašnieks Rīgas Stradiņa universitāte. Pieteikuma publ. datums 01.12.2016.
6. Voicehovska, J., Vlaskovska, M., Janovska, J., Babikovs, S., Voicehovskis, V., Skesters, A., Silova, A., Karpovs, J., Zubova, A., Kisis, J., Daberte, I., Sprudza, D., Kleina, R. 2018. Oxidative stress markers diagnostic value in metabolic syndrome dermal manifestations: a prospective clinical trial. *C R Acad Bulg Sci*. 71(2): 271-9. DOI 107546/crabs.2018.02.15.
7. Janovska, J., Voicehovska, J., Kleina, R., Kisis, J., Karls, R., Zubova, O., Babikovs, S. Diversity of CD1a positive cells in case of 25-hydroxyvitamin D deficiency in patients with metabolic syndrome. UDC Classification: 616-01, DOI: <http://dx.doi.org/10.12955/cbup.v2.475>, pages 292-297.
8. Janovska, J., Voicehovska, J., Kisis, J., Kleina, R., Karls, R. 01.05.2013. Pilot study of skin aging peculiarities in patients with metabolic syndrome. *Journal of Investigative Dermatology*. 133(1).

Literatūras saraksts

1. Achanta, G., Huang, P. 2004. Role of p53 in sensing oxidative DNA damage in response to reactive oxygen species-generating agents. *Cancer Research*. 64(17), 6233–6239.
2. Afanas'ev, I. B. 2010. Signaling by reactive oxygen and nitrogen species in skin diseases. *Current Drug Metabolism*. 11(5), 409–414.
3. Afsana, F. et al. 2010. Parameters of metabolic syndrome are markers of coronary heart disease – an observation study. *International Journal of Diabetes Mellitus*. 2(2), 83–87.
4. Akase, T., Nagase, T., Huang, L., Ibuki, A., Minematsu, T., Nakagami, G., Ohta, Y., Shimada, T., Aburada, M., Sugama, J., Sanada, H. 2012. Aging-like skin changes induced by ultraviolet irradiation in an animal model of metabolic syndrome. *Biol Res Nurs*. 14, 180–187. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/accel.12017#references-section> [viewed 25.06.2019.].
5. Akdeniz, N., Uzuncakmak, T. K., Karadag, A. S. 2018. Cutaneous manifestations of obesity and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 36, 81–88.
6. Alfthan, G. 1984. A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test-tube fluorimetry. *Analytical Chimica Acta*. 165, 187–194.
7. Alissa, E. M., Bahijri, S. M., Ferns, G. A. 2003. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Med Sci Monit*. 9(1), 9–18.
8. Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90, 7915–79
9. Anonymous authors. 2008. *Boomers, the Generation that Could and Will*. Procter & Gamble Healthcare Consumer Institute.
10. Arking, R., Force, A. G., Dudas, S. P., Buck, S., Baker, G. T. 1996. Factors contributing to the plasticity of the extended longevity phenotypes of *Drosophila*. *Exp. Gerontol*. 31(6), 623–643.
11. Arnaud, J, de Lorgeril M., Akbaraly T., Salen P., Arnout J., Cappuccio F. P. 2012. Gender differences in copper, zinc and selenium status in diabetic-free metabolic syndrome European population – The IMMIDIET study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 22, 517–24.
12. Back, P., Braeckman, B. P., Matthijssens F. 2012. ROS in aging *Caenorhabditis elegans*: damage or signaling? *Oxid Med Cell Longev*. 608478.
13. Balaban, R. S., Nemoto, S., Finkel, T. 2005. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 120, 483–495.

14. Banerjee, R. R. 2004. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science*. 303, 1195–1198.
15. Bera, S., Rosa, V. D., Rachidi, W., Diamond, A. M. 2013. Does a role for selenium in DNA damage repair explain apparent controversies in its use in chemoprevention? *Mutagenesis*. 28(2), 127–134.
16. Bevan, R. J., Durand, M. F., Hickenbotham, P. T., Kitas, G. D., Patel, P. R., Podmore, I. D., Griffiths, H., R., Waller, H. L., Lunec, J. 2003. Validation of a novel ELISA for measurement of MDA-LDL in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*. 35, 517–527.
17. Bjelland, S., Seeberg, E. 2003. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. Mutation Research. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 531(1–2), 37–80.
18. Boldirev, A. A. 2000. Discrimination between Apoptosis and Necrosis of Neurons under Oxidative Stress. *Biochemistry (Moscow)*. 65(7), 981–990.
19. Brantova, O., Tesarova, M., Hansikova, H. 2006. Ultrastructural changes of mitochondria in the cultivated skin fibroblasts of patients with point mutations in mitochondrial DNA. *Ultrastruct Pathol*. 30, 239–245.
20. Braverman, M., Fonfrko, E. 1982. Studies in cutaneous aging: II. The microvasculature. *J Invest Dermatol*. 73, 59–66.
21. Brenneisen, P., Steinbrenner, H., Sies, H. 2005. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med*. 26(4–5), 256–267.
22. Brys, K., Vanfleteren, J. R., Braeckman, B. P. 2007. Testing the rate-of-living / oxidative damage theory of aging in the nematode model *Caenorhabditis elegans*. *Exp Gerontol*. 42, 845–851.
23. Burke, K. E., Combs Jr., G. F., Gross, E. G., Bhuyan, K. C., Abu-Libdeh, H. 1992. The effects of topical and oral L-selenomethionine on pigmentation and skin cancer induced by ultraviolet irradiation. *Nutrition and Cancer*. 17(2), 123–137.
24. Cadenas, E., Davies, K. J. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*. 29, 222–230.
25. Cardiol, A. J., Francisco G., Hernández C., Simó R. 2006. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. *Clin Chim Acta*. 369(1), 1– 16.
26. Cario-Andre, M., Lepreux, S., Pain, C. 2004. Perilesional vs. lesional skin changes in senile lentigo. *J Cutan Pathol*. 31, 441–447.
27. De Leo, V. A., Dawes, L., Jackson, R. 1981. Density of Langerhans cells (LC) in normal versus chronic actinically damaged skin (CADS) of humans. *J Invest Dermatol*. 76, 330–334.

28. Douki, T., Reynaud-Angelin, A., Cadet, J., Sage, E. 2003. Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation. *Biochemistry*. 42(30), 9221–9226.
29. Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82, 47–95.
30. Ergun, T. 2018. Hidradenitis suppurativa and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 36, 41–47.
31. Experientia, C. E. 1972. Increased incidence of lymphomas in thymectomized mice. *Evidence for an Immunological Theory of Aging*. 28(4), 459.
32. Fain, H. D. 2013. Selenium for prevention of cutaneous melanoma. *Nutrients*. 5(3), 725–749.
33. Farage, M. A. 2007. Structural characteristics of the aging skin: a review. *Cutan Ocular Toxicol*. 26, 343–357.
34. Farooqi, I. S. 2001. Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature*. 414, 34–35.
35. Feldman, D., Bryce, G. F., Shapiro, S. S. 1990. Mitochondrial inclusions in keratinocytes of hairless mouse skin exposed to UVB radiation. *J Cutan Pathol*. 17, 96–100.
36. Finn, J. C., Cox, S. E., Earl, M. L. 2003. Social implications of hyperfunctional facial lines. *Dermatol Surg*. 29, 450–455.
37. Fisher, G. J., Datta, S. C., Talwar H. S. 1996. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature*. 6563(379), 335–339.
38. Fisher, G. J., Kang, S., Varani, J. 2002. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*. 138, 1462–1470.
39. Francischetti E. A. 05.2011. Skin capillary density and microvascular reactivity in obese subjects with and without metabolic syndrome. *Microvasc Res*. 81(3), 325–330. doi: 10.1016/j.mvr.2011.01.002
40. Freitas, B. E., de Castro L. L. 2015. Antioxidant capacity total in non-melanoma skin cancer and its relationship with antioxidant nutrients. *Nutr Hosp*. 31(4), 1682–1688.
41. Friedman, J. M. 2000. Obesity in the new millennium. *Nature*. 404, 632–634.
42. *General AntiOxidant Action by Ben Best*. <http://www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html>
43. Gentlelift.com. http://www.gentlelift.com/facial_aging.htm
44. Gilchrest, B. A. 1984. *Skin and Aging Processes*. Boca Raton: CRC Press.

45. Godin, D. 1988. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. *Mol Cell Biochem.* 84, 223–233.
46. González-Saldivar G., Rodríguez-Gutiérrez, R., González-González, J. G., Gómez-Flores M., Ocampo-Candiani, J. 2017. Skin Manifestations of Insulin Resistance: From a Biochemical Stance to a Clinical Diagnosis and Management. *Dermatology and Therapy.* 7(1), 37–51.
47. Grattagliano, I. 2008. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *J Nutr Biochem.* 19, 491–504.
48. Gregorio, B. M., De Souza, D. B., de Moraes Nascimento F. A., Pereira, L. M., Fernandes-Santos C. 2016. The potential role of antioxidants in metabolic syndrome. *Curr. Pharm. Des.* 22, 859–869. Available from: doi: 10.2174/1381612822666151209152352 [viewed 25.06.2019.].
49. Gudkov, A. V. 2002. Converting p53 from a killer into a healer. *Nature Medicine.* 11(8), 1196–1198.
50. Guillery, O., Malka, F., Frachon, P. 2008. Modulation of mitochondrial morphology by bioenergetics defects in primary human fibroblasts. *Neuromuscul Disord.* 18, 319–330.
51. Gupta, M. A., Gilchrest, B. A. 2005. Psychosocial aspects of aging skin. *Dermatologic Clinics.* 23(4), 643–648.
52. Guzik T. J., Skiba D. S. et al. 01.07.2017. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. *Cardiovasc Res.* 113(9), 1009–1023. doi: 10.1093/cvr/cvx108
53. Haigis, M. C., Yankner, B. A. 10.2010. The Aging Stress Response. *Mol Cell.* 40(2), 333–344.
54. Halliwell B., Gutteridge, J. M. C. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 5th ed. Oxford University Press, 944.
55. Hansford, R. G. 1983. Bioenergetics in aging. *Biochim Biophys Acta.* 726, 41–80.
56. Harman, D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 11, 298–300.
57. Harman D. Free-radical theory of aging. Increasing the functional life span. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Jun 30;717:1-15. doi: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb12069.x. PMID: 8030825.
58. Ya-Ting, C., Wen-Neng, C., Nai-Wen, T. 2014. The Roles of Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant in Alzheimer’s Disease: A Systematic Review. *BioMed Research International.* 182303, 1–14.

59. Jaitley, S., Saraswathi, T. 2012. Pathophysiology of Langerhans cells. *Journal of Oral & Maxillofacial Pathology*, 239–244. Available from: <http://www.jomfp.in/article.asp?issn=0973-029X;year=2012;volume=16;issue=2;spage=239;epage=244;aualast=Jaitley>
60. Jendrach, M., Pohl, S., Voth, M. 2005. Morpho-dynamic changes of mitochondria during ageing of human endothelial cells. *Mech Ageing Dev.* 126, 813–821.
61. Jobeili, L., Rousselle, P., Béal, D. 2017. Selenium preserves keratinocyte stemness and delays senescence by maintaining epidermal adhesion. *Ageing (Albany NY)*. 9(11), 2302–2315. Available from: doi: 10.18632/aging.101322 [viewed 25.06.2019.].
62. Kadono, S., Manaka, I., Kawashima, M. 2001. The role of the epidermal endothelin cascade in the hyperpigmentation mechanism of lentigo senilis. *J Invest Dermatol.* 116, 571–577.
63. Kahn, B. B., Flier, J. S. 2000. Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 106, 473–481.
64. Kapahi, P., Boulton, M. E., Kirkwood, T. B. 1999. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress. *Free Radic Biol Med.* 26(5–6), 495–500.
65. Kligman, A. M. 1979. Perspectives and problems in cutaneous gerontology. *J Invest Dermatol.* 73, 39–46.
66. Kluczynik CE, Mariz LS, Souza LC, Solano GB, Albuquerque FC, Medeiros CC. Acanthosis nigricans and insulin resistance in overweight children and adolescents. *An Bras Dermatol.* 2012 Jul-Aug;87(4):531-7. doi: 10.1590/s0365-05962012000400002. PMID: 22892764.
67. Kunlin, J. 2010. Ageing and Disease. 2(1), 72–74. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2995895/> [viewed 25.06.2019.].
68. Mantovani, A., Casatella M. A., Jaiion S. 2011. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*. Available from: doi: 10.1038/nri3024.
69. Matsuoka, T. 1997. Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. *J. Clin. Invest.* 99, 144–150.
70. Matsuzawa, Y., Funahashi, T., Kihara, S., Shimomura, I. 2004. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24, 29– 33.
71. McCord, J. M. 2000. The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. *Am J Med.* 108, 652–659.
72. McKenzie, R. C. 2000. Selenium, ultraviolet radiation and the skin. *Clinical and Experimental Dermatology* 25(8), 631–636.

73. *McNemar's test*. http://rasbt.github.io/mlxtend/user_guide/evaluate/mcnemar/. 2020.
74. *McNemar test*. <https://www.statisticshowto.com/McNemar-test/>. 2014.
75. Meagher, E. A., FitzGerald G. A. 2000. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radical Biology and Medicine*. 28, 1745–1750.
76. Moore, J. X., Chaudhary, N., Akinyemiju, T. 2017. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–2012. Preventing Chronic Disease 14. Available from: https://www.cdc.gov/pcd/issues/2017/16_0287.htm [viewed 25.06.2019.].
77. Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. *Adv Exp Med Biol*. 1994;366:17-27. doi: 10.1007/978-1-4615-1833-4_2. PMID: 7771251.
78. Mouret, S., Baudouin, C., Charveron, M., Favier, A., Cadet, J., Douki, T. 2006. Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(37), 13765–13770.
79. Nordlund, J. J., Boissy, R. E., Hearing, V. J., King, R. A., Ortonne, J. P. 1998. *The Pigmentary System*. New York: Oxford University Press. 969– 975.
80. Oba, A., Edwards, C. 2006. Relationships between changes in mechanical properties of the skin, wrinkling, and destruction of dermal collagen fiber bundles caused by photoaging. *Skin Res Technol*. 12(4), 283–288.
81. Pittelkow, M. R., Coffey, R. J., Moses, H. J. 1988. Keratinocytes produce and are regulated by transforming growth factors. *Ann N Y Acad Sci*. 548, 211–224.
82. Puchau, B., Zulet, M. A., Hermsdorff, H. H., Navarro-Blasco, I., Martínez, J. A. 2010. Nail antioxidant trace elements are inversely associated with inflammatory markers in healthy young adults. *Biol Trace Elem Res*. 133, 304–312.
83. Quan, T., He, T., Kang, S. 2004. Solar ultraviolet irradiation reduces collagen in photoaged human skin by blocking transforming growth factor-beta type II receptor. Smad signaling. *Am J Pathol*. 165, 741–751.
84. Quan, T., He, T., Voorhees, J. J. 2001. Ultraviolet irradiation blocks cellular responses to transforming growth factor-beta by down-regulating its type-II receptor and inducing Smad7. *J Biol Chem*. 276, 26349–26356.
85. Quan, T., He, T., Kang, S. 2002. Ultraviolet irradiation alters transforming growth factor beta/smud pathway in human skin in vivo. *J Invest Dermatol*. 119, 499–506.
86. Rayman, M. P. 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet*. 356(15), 233–241.

87. Reaven, G. M. 2011. The metabolic syndrome: time to get off the merry-go-round? *J Intern Med.* 269(2), 127–136. Available from: doi:10.1111/j.1365-2796.2010.02325.x [viewed 25.06.2019.].
88. Reiser, K. 1991. Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 37, 17–29.
89. Ridley, A. J., Whiteside J. R., McMillan, T. J., Allinson S. L. 2009. Cellular and sub-cellular responses to UVA in relation to carcinogenesis. *International Journal of Radiation Biology.* 85(3), 177–195.
90. Sonthalia S, Agrawal M, Sharma P, Pandey A. Maturation Hyperpigmentation: Cutaneous Marker of Metabolic Syndrome. *Dermatol Pract Concept.* 2020 Apr 20;10(2):e2020046. doi: 10.5826/dpc.1002a46. PMID: 32363108; PMCID: PMC7190466.
91. Soory, M. 2012. Nutritional antioxidants and their applications in cardiometabolic diseases. *Infect. Disord. Drug Targets.* 12, 388–401. Available from: doi: 10.2174/187152612804142233 [viewed 25.06.2019.].
92. Stadtman, E. R. 1992. Protein oxidation and aging. *Science.* 257, 1220–1224.
93. Stambach, N. S., Taylor, M. E. 2003. *Glycobiology* 13, 401–410.
94. Stefanadi, E. C., Dimitrakakis, G., Antoniou, C. K. 2018. Metabolic syndrome and the skin: a more than superficial association. Reviewing the association between skin diseases and metabolic syndrome and a clinical decision algorithm for high risk patients. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 10(9). Available from: doi: 10.1186/s13098-018-0311-z
95. Tabas, I., Seimon, T., Arellano, J., Li, Y., Forcheron, F. 2007. The impact of insulin resistance on macrophages death pathways in advanced atherosclerosis. *Novartis Founds Symp.* 286, 99–109, discussion 109–112, 162– 163, 196–203.
96. Takahara, K., Omatsu, Y., Yashima, Y., Maeda, Y., Tanaka, S., Iyoda, T., Clusen, B., Matsubara, M., Letterio, J., Steinman, R. M., Matsuda, Y., Inaba, K. 2002. *Int. Immunol.* 14, 433–444.
97. Takahara, K., Yashima, Y., Omatsu, Y., Yoshida, H., Kimura, Y., Kang, Y. S., Steinman, R. S., Park, C. G., Inaba, K. 2004. *Int. Immunol.* 16, 819–829.
98. Teibe, U. 2007. *Bioloģiskā statistika.* Rīga: Latvijas Universitāte, 156.
99. Teibe, U., Berķis, U. 2001. *Varbūtību teorijas un matemātiskās statistikas elementi medicīnas studentiem.* Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 88.
100. Urbanavicius, A. *Free Radical Damages in Proteins.* <http://www.cryst.bbk.ac.uk>
101. Uysal, K. T., Wiesbrock, S. M., Marino, M. W., Hotamisligil, G. S. 1997. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function. *Nature.* 389, 610–614.
102. Van Heemst, D. 2010. Insulin, IGF-1 and longevity. *Aging Dis.* 1(2), 147–157.

103. Van Waateringe R. P., Slagter, S. N., van Beek, A. P., van der Klauw, M. M., van Vliet-Ostaptchouk, J. V., Graaff, R. 2017. Skin autofluorescence, a non-invasive biomarker for advanced glycation end products, is associated with the metabolic syndrome and its individual components. *Diabetol Metab Syndr.* 9, 42. Available from: doi: 10.1186/s13098-017-0241-1 [viewed 25.06.2019.].
104. Wang, A. S., Dreesen, O. 2018. Biomarkers of Cellular Senescence and Skin Aging. *Front Genet.* 247(9), 23. Available from: doi:10.3389/fgene.2018.00247 [viewed 25.06.2019.].
105. Wei, Y. H., Lu, C. Y., Wei, C. Y., Ma, Y. S., Lee, H. C. 2001. Oxidative stress in human aging and mitochondrial disease-consequences of defective mitochondrial respiration and impaired antioxidant enzyme system. *Chin J Physiol.* 44, 1–11.
106. Wiseman, H., Halliwell, B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *The Biochemical Journal.* 313(1), 17–29.
107. Wlaschek, M., Tantcheva-Poór, I., Naderi, L., Ma, W., Schneider, L. A., Razi-Wolf, Z., Schüller, J., Scharffetter-Kochanek, K. 2001. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *J Photochem Photobiol B.* 63(1–3), 41–51.
108. Woolliams, J. A., Wiener, G., Anderson, P. H., McMurray, C. H. 1983. Variation in the activities of glutathione-peroxidase and superoxide-dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. *Research in Veterinary Science.* 34, 253–256.
109. Xu, Y., Shao, Y., Voorhees, J. J. 2006. Oxidative inhibition of receptor- type protein-tyrosine phosphatase kappa by ultraviolet irradiation activates epidermal growth factor receptor in human keratinocytes. *J Biol Chem.* 281, 27389–27397.
110. Zegarska, B. 2010. Histopathological lesions in different types of skin aging. *Acta Dermatoven APA.* 19.

Pateicības

Vēlos izteikt pateicību visiem, kas palīdzēja promocijas darba izstrādē. Pateicos savai ģimenei Allai un Anatolijam Janovskiem par atbalstu un ticību man.

Vēlos pateikties zinātniskā darba vadītājiem asoc. profesorei Jūlijai Voicehovskai un profesoram Jānim Ķīsim par padomiem un praktiskām rekomendācijām, paldies par iespēju kopā strādāt un mācīties, virzīties uz priekšu.

Izsaku pateicību profesorei Regīnai Kleinai par neatlaidību un mērķtiecību, profesoram Andrejam Šķesteram par sadarbību un palīdzību.

Paldies manam vīram Eduardam par sapratni, atbalstu un entuziasmu.

Izsaku pateicību katram, kas mani atbalstījis! Bez jums neizdotos veikt man tik interesantu un aizraujošu zinātnisku pētījumu.