

Projekts Nr. 2

2. Diabēta un kardiovaskulāro komplikāciju molekulārie mehānismi, farmakoģenētika un jauni ārstniecības līdzekļi

projekta vadītāja
vārds, uzvārds,
zinātniskais grāds
institūcija
ieņemamais amats
kontakti

Ivars Kalviņš	
Dr. hab. chem.	
Latvijas Organiskās sintēzes institūts	
Zinātniskās padomes priekšsēdētājs	
Tālrunis	67014800
E-pasts	kalvins@osi.lv

1. Projekta Nr. 2 mērķi:

(Norāda projekta mērķi (saskaņā ar apstiprināto projekta pieteikumu un līgumu) un informāciju par mērķa sasniegšanu/izpildi)

Projekta mērķis bija attīstīt zinātnisko kompetenci sabiedrības veselības nozarē, veicot iedzīvotāju veselības paradumu, klīniskos un biomedicīnas pētījumus, kā arī izstrādāt jaunus diagnostikas un ārstniecības līdzekļus un metodes, lai panāktu uzlabojumus diabēta komplikāciju ārstēšanā un profilaksē, kas nodrošinātu sabiedrības veselības stāvokļa uzlabošanu, tai skaitā mazinātu saslimstību un mirstību. Projekta īstenošanas gaitā ir sasniegti nozīmīgi rezultāti, kas parāda dažādu diabēta un sirds-asinsvadu slimību izcelsmes un norises saistību kā ar enerģijas metabolismā iesaistītajām vielām (TMAO, acilkarnitīni), tā ar zarnu mikrofloras (mikrobiotas) spējām metabolizēt diētas komponentus un mikrobiotas izmaiņām kā populācijas, tā genoma līmenī. Tāpat noskaidrotas dažas ar endokrīnajām slimībām saistītās Latvijas iedzīvotāju uztura sastāva īpatnības (piem. tā ietekme uz joda saturu iedzīvotāju asinīs). Iegūtas jaunas zināšanas par dažādu gēnu ekspresijas izmaiņām slimniekiem ar cukura diabētu, kā arī gēnu metilēšanas izmaiņas pacientiem salīdzinājumā ar veseliem cilvēkiem. Izstrādāti algoritmi, kas varētu kalpot par pamatu personalizētai pieejai diabēta ārstēšanā. Skaidroti arī mehānismi, kas varētu būt par pamatu cukura diabēta ārstēšanas līdzekļa metformīna efektivitātes atšķirībām slimnieku populācijā. Pētīti arī molekulārie mehānismi, kas iesaistīti cukura diabēta un aterosklerozes ģenēzē, īpaši koncentrējoties uz niacīna un hidroksikarbonskābju receptoriem. Atrasti jauni perspektīvi savienojumi šo receptoru aktivitātes regulēšanai. Iegūti arī jauni dati par trimetilamīnu producējošo baktēriju iesaisti TMAO ģenerēšanā.

Kopumā projekta Nr2 iegūtie rezultāti ir nozīmīgs ieguldījums kā programmas kopējo mērķu sasniegšanā, tā arī jaunu diagnostikas un ārstēšanas metožu (personalizētās medicīnas) un jaunu medikamentu izstrādē Latvijas iedzīvotāju veselības stāvokļa uzlabošanai, cukura diabēta un sirds-asinsvadu slimību profilaksei un ārstēšanai.

2. Projekta Nr. 2 uzdevumi:

(Norāda projekta pārskata periodā plānotās darbības un galvenos rezultātus. Kopējais saturiskais izklāsts nepārsniedz divas A4 lapas)

Darba uzdevumi	Galvenie rezultāti
2.1. Antidiabētisko un kardiovaskulāro ārstniecības līdzekļu farmakoģenētikas izpēte <i>2.1.1. Klīniskie pētījumi 2TD</i>	Iesaistīti jaunu pacienti iepriekš uzsāktā OPTIMED un RetroOPTIMED pētījumu grupā palielinot to līdz 575 T2D pacientiem. Turpināti visas grupas longitūdinālie novērojumi

<p><i>terapijas uzlabošanai un komplikāciju novēršanai</i></p> <p>2.1.1. Turpināt prospektīvu klīnisku pētījumu veikšanu, iesaistot 2. tipa diabēta pacientus, ievākt bioloģiskos paraugus un klīniskos datus ar mērķi identificēt ar farmakoviliganci saistītus biomarkierus.</p> <p>Veikt paraugkopas datu analīzi ar mērķi identificēt pētījuma apkšgrupas.</p>	<p>reģistrējot T2D terapijas izmaiņas un tās efektivitāti, iegūti klīniskie un antropometriskie dati, kā arī bioloģiskie paraugi ģenētiskajiem, epiģenētiskajiem un mikrobioma pētījumiem.</p> <p>Izveidots paraugkopas pārskats -1</p>
<p>2.1.2. <i>Medikamentu un ģenētisko marķieru asociācija ar metabolītu kinētikas parametriem un 2TD kardiovaskulāro komplikāciju riska pacientu optimālās individualizētās terapijas rekomendāciju izstrāde un algoritma izveide.</i></p> <p>2.1.2.1. Veikt uz 16S RNS sekvenēšanas bāzētu zarnu mikrofloras profilēšanu un mikrofloras metagenoma analīzi 16 veseliem nediabētiskiem indivīdiem, lai noteiktu 1 nedēļu ilgas metformīna lietošanas ietekmi uz mikrobiomu.</p> <p>2.1.2.2. Veikt NGS bāzētu gēnu ekspresijas analīzi 12 veseliem nediabētiskiem indivīdiem, lai noskaidrotu metformīna izraisītās izmaiņas mRNS līmenī.</p>	<p>Veikta uz 16S RNS sekvenēšanas bāzētu zarnu mikrofloras profilēšana 18 veseliem nediabētiskiem indivīdiem. Tika atklāta būtiska mikrofloras daudzveidības samazināšanās metformīna ietekmē paraugos 1 dienu un 7 dienas pēc metformīna lietošanas uzsākšanas. Novērota Echerichina-Shigella ģints pārstāvju skaita disproporcionāla palielināšanās 7 dienu paraugā, kas iespējams izskaidro blakņu klātbūtni. Veikta metagenoma analīze 16 paraugos. Noskaidrotas metformīna ietekmē visvairāk izmainītās taksonomiskās vienības.</p> <p>Veikta NGS bāzēta gēnu ekspresijas analīze 8 pētījumā iesaistītajiem dalībniekiem. Datu analīzes rezultātā novērota statistiski ticama izmaiņas globālajā gēnu ekspresijas līmenī, kas apstiprina metilēšanas analīzes rezultātā iegūtos datus.</p>
<p>2.1.3. <i>Ar terapijas efektivitāti un blaknēm saistītu ģenētisko marķieru identificēšana un individualizētai terapijai piemērotu diagnostikas testu izstrāde.</i></p> <p>2.1.3.1. Veikt DNS metilēšanas analīzi 12 veseliem nediabētiskiem indivīdiem, lai identificētu 1 nedēļu ilgas metformīna lietošanas ietekmi uz balto asinsšūnu DNS metilēšanu</p>	<p>Veikta DNS metilēšanas analīzi 12 veseliem nediabētiskiem indivīdiem identificējot metilācijas izmaiņas, kas lielākas par 3% vismaz 50 CpG lokusos ar augstu statistisko ticamību ($P=1^{-8}$ līdz 10^{-12}) paraugos, kas iegūti 10 stundas un 7 dienas pēc metformīna lietošanas uzsākšanas.</p>
<p>2.1.3.2. Pilnveidot individualizētās terapijas algoritmus optimālas terapijas izvēlei ņemot vērā no mikrobioma, gēnu ekspresijas un DNS metilēšanas pētījumiem iegūto informāciju.</p>	<p>Kombinējot ģenētiskos, DNS metilēšanas un 16S RNS mikrobioma analīzes datus un to savstarpējās mijiedarbības izstrādāti iespējama individualizētās terapijas algoritma modeļi un protokols klīniskajam eksperimentam, kas nodrošinātu dažādu modeļu validāciju un turpmāku to optimizāciju.</p>

<p>2.2. Antidiabētisko un kardiovaskulāro potenciālo ārstniecības līdzekļu izstrāde un to funkcionālie pētījumi.</p> <p>2.2.1. <i>Mērķtiecīga maztoksisku ligandu sintēze hidroksikarbonskābju, īso ķēžu brīvo taukskābju un P2Y12 receptoru potenciālo terapeitisko ligandu izpētei. Izpētīt proteasomu gēna Psmā 6 ekspresijas izmaiņas cukura diabēta indukcijas laikā: Izpētīt četru 1,4 DHP atvasinājumu ietekmi uz proteasomu gēna Psmā 6 ekspresijas izmaiņām.</i></p>	<p>Izpētīta metkarabtona, etkarabtona, stirilkarabtona un glutapirona AV-153-Na ietekme uz <i>Psmā 6</i> gēna ekspresiju žurku nierēs un asinīs. Ekspresija bija daudz augstāka nierēs, salīdzinot ar asinīm. Pēc cukura diabēta indukcijas ekspresija nierēs vēl pastiprinājās, bet asinīs neizmainījās. Visi pētītie 1,4 –DHP paaugstināja gēna ekspresiju nierēs kontroles dzīvniekiem. Asinīs ekspresiju stimulēja tikai glutapirons. Cukura diabēta modelī visi 1,4-DHP izņemot etkarabtonu stimulēja <i>Psmā 6</i> gēna ekspresiju, bet AV-153 palielināja to arī asinīs.</p>
<p>2.2.2. <i>GPCR ligandu testēšana un atklāto biomarkieru funkcionālā izpēte šūnu un dzīvnieku bāzētās modeļsistēmās</i></p> <p>2.2.3. <i>Hidroksikarbonskābju un brīvo taukskābju receptoru saistībā ar mikrobioma producēto butirātu un tā potenciālo saistību ar metabolajām slimībām:</i></p> <p>Dizainēt un sintezēt niacīna un īso ķēžu brīvo taukskābju receptoru potenciālos ligandus to aktivitātes izvērtēšanai. Konstruēt un iegūt HCA2 receptora agonistus 2-(3-arilpropānamido)-cikloheks-1-ēnkarbonskābes atvasinājumu rindā, izvēršot bioaktīvās molekulas rigidifikācijas koncepciju</p>	<p>Iegūti īso ķēžu brīvo taukskābju ligandi, kuri veido divas jaunas šo receptoru ligandu klases. Konstatēta līdzība un atšķirība FFAR3, FFAR2, HCA2 ligandu grupu specifiskumā. Veikti pētījumi par 2-amidocikloheks-1-ēnkarbonskābju saturošo savienojumu linkera ietekmi uz HCA2 aktivēšanas spēju. Ir iegūti savienojumi ar enīna, feniletīl, dubultsaites un trīskāršās saites linkeriem, kuriem piemīt nanomolāra aktivitāte.</p>
<p>2.3. Diabēta komplikāciju un jaunu kardioprotektīvu vielu izpēte ar mērķi izpētīt enerģijas metabolisma signālceļu un molekulāros mehānismus jaunu kardioprotektīvu zāļu mērķu atklāšanai un marķieru noskaidrošanai klīnisko risku novērtēšanai.</p> <p>2.3.1. <i>Kardiovaskulāro risku marķieru pētījumi</i></p> <p>Pētīt jauna kardiovaskulāro risku marķiera, trimetilamīna N-oksīda (TMAO), bioķīmiskos mehānismus mitohondriju līmenī, lai detalizēti raksturotu signālceļus, kas saista šo</p>	<p>Pētot TMAO ietekmi uz mitohondriju funkcionalitāti, tika atrasts, ka TMAO kavē piruvāta un taukskābju oksidācijas procesus kardiomiocītos. Tas nozīmē, ka paaugstinātas TMAO koncentrācijas gadījumā sirds šūnās pasliktinās enerģijas metabolisma efektivitāte, kā rezultātā varētu attīstīties sirds mazspēja. Starptautiski citējamā žurnālā iesniegts manuskripts:</p> <p><i>Trimethylamine N-oxide impairs pyruvate and fatty acid oxidation in cardiac mitochondria.</i> M. Makrecka-Kuka, K. Volska, U. Antone, R. Vilskersts, S. Grinberga, D. Bandere, E. Liepinsh, M. Dambrova</p> <p>Eksperimentālā darba rezultāti ziņoti 1 starptautiskā un 2 Latvijas konferencēs</p>

metabolītu ar kardiovaskulāro risku un diabēta statusa pasliktināšanos.	(abstrakti). (2.2. apakšprojekts, sadarbībā ar 2.3.)
<p>2.3.2. <i>Enerģijas metabolismā iesaistīto molekulu biosintēzes izpēte.</i></p> <p>2.3.2.1. Turpināt pētīt acilkarnitīnu lomu glikozes un taukskābju metabolisma regulācijā un diabēta patoģenēzē.</p>	<p>Lai noskaidrotu acilkarnitīnu līmeņa farmakoloģiskās regulācijas molekulāros mehānismus, detalizēti pētīta acilkarnitīna koncentrāciju samazinoša aģenta meldonija, karnitīna un gamma-butirobetaīna (GBB) farmakokinētiskā mijiedarbība. Noskaidrots, ka karnitīns un GBB paātrina meldonija elimināciju. Sagatavots manuskripts un iesniegts izskatīšanai starptautiski citējamā žurnālā:</p> <p><i>Carnitine and γ-butyrobetaine stimulate elimination of meldonium due to competition for OCTN2-mediated transport.</i></p> <p>E. Liepinsh, E. Makarova, E. Sevostjanovs, D. Hartmane, H. Cirule, O. Zharkova-Malkova, S. Grinberga, M. Dambrova.</p> <p>Eksperimentālā darba rezultāti par acilkarnitīnu līmeņu regulācijas dažādiem aspektiem ziņoti 6 starptautiskās konferencēs (6 abstrakti). (2.2. apakšprojekts, sadarbībā ar 2.3.)</p>
<p>2.3.2.2. Ar rentgenstaru kristalogrāfijas palīdzību noskaidrot karnitīna oksigenāzes CntA trīsdimensionālo struktūru. Izveidot CntA knock-out mutantu kādā no mikrobiotas pārstāvjiem.</p>	<p>Uzproducēti tipisku mikrobiotas pārstāvju <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Providencia rettgeri</i> un <i>Eschericia coli</i> CntA un CntB proteīni. Izveidota vienkāršota CntA aktivitātes testēšanas sistēma bez aktivējošā enzīma CntB klātbūtnes, izmantojot reducējošo aģentu nātrija ditionītu. Noskaidrots, ka, pretēji dažos literatūras avotos aprakstītajam, CntA enzīmi nemetabolizē holīnu. Visiem 3 CntA enzīmiem izmēģināti vairāk kā 10000 kristalizēšanas apstākļi. Kristāli iegūti <i>P. rettgeri</i> CntA enzīmam, no kuriem savākti 3.2 Å izšķirtspējas dati.</p>
<p>2.3.3. <i>Kardio-vaskulāro risku saistība ar diētu un ēšanas paradumiem.</i></p> <p>Metabolo slimību prevencija: zinātniskais apsekojums par grūtnieču joda nodrošinājumu Latvijā un tā saistību ar grūtniecības norisi</p>	<p>Projekta ietvaros uz Latvijā veiktu apsekojumu datu bāzes veidotas nacionālās rekomendācijas joda nodrošinājuma uzlabošanai Latvijā. Tāpat veikts pētījums, lai noskaidrotu joda saturu Latvijas lielveikalos pieejamā pienā gan organiskā piena paraugos. Vidējā joda koncentrācija piena paraugos bija $420,7 \pm 179,6$ µg/L, kas pienu ierindo vadošo joda avotu vidū. Rezultāti ziņoti 2 starptautiskās konferencēs (3 abstrakti) (2.4 apakšprojekts)</p>
<p>2.4. DNS reparācijas enzīmu molekulārģenētiskā un farmakoloģiskā izpēte saistībā ar metabolām slimībām</p>	<p>Pierādīts, ka 1,4-DHP spēj samazināt DNS bojājumu marķiera γH2AX ekspresiju šūnās, B-limfocītos ar transfcētu Tat proteīnu. Ar AV-153-Na un AV-153-Mg –efektu var panākt pie</p>

Izpētīt četru 1,4 DHP atvasinājumu ietekmi uz DNS pārrāvumu marķiera ekspresiju šūnās ar transficētu Tat proteīnu	25 nM, AV-153-Ca un AV-153-K - 50 nM, J-9-125 un PP-544-Na - 100 nM, ar metkarbatonu un glutapironu - 500 nM
---	--

3. Projekta Nr. 2 izvirzīto uzdevumu izpildes rezultāti

(Novērtē, kādā mērā ir sasniegti plānotie mērķi un uzdevumi. Raksturo rezultātu zinātnisko un praktisko nozīmību, kā arī rezultātu praktisko lietojumu (lietišķiem pētījumiem). Raksturo problēmas, to iespējamās risinājumus, turpmākā darba virzienus. Kopējais saturiskais izklāsts nepārsniedz četras A4 lapas)

2. projekta trešajā posmā pētījumi norisinājās kā eksperimentālo, tā klīnisko pētījumu jomā.

Eksperimentālie pētījumi tika koncentrēti uz sirds-asinsvadu slimību un cukura diabēta patoģenētisko faktoru un marķieru izpēti.

Tā, 3. posmā tika veikta jauna kardiovaskulāro risku marķiera, trimetilamīna N-oksīda (TMAO), patofizioloģiskās iedarbības bioķīmiskie mehānismi mitohondriju līmenī, lai detalizēti raksturotu signāļceļus, kas saista šo metabolītu ar kardiovaskulāro risku un diabēta statusa pasliktināšanos. Darba rezultātā tika izpētīta TMAO ietekme uz mitohondriju funkcionalitāti, un tika atrasts, ka TMAO kavē pīruvāta un taukskābju oksidācijas procesus kardiomiocītos. Tas nozīmē, ka paaugstinātas TMAO koncentrācijas gadījumā sirds muskuļa šūnās pasliktinās enerģijas metabolisma efektivitāte, kā rezultātā varētu attīstīties sirds mazspēja. Šis atradums nozīmē, ka TMAO ir potenciāli negatīva ietekme ne tikai kā iespējamam aterosklerozes izraisītājfaktoram, bet arī kā sirds funkcionalitāti nomācošam metabolītam.

Lai noskaidrotu to, kā tieši kuņģa zarnu traktā no karnitīna veidojas potenciāli kaitīgā TMAO priekštecis – trimetilamīns, no 3 tipiskiem cilvēka mikrobiotas pārstāvjiem – *K. pneumoniae*, *P. rettgeri* un *E. coli* tika izolēti karnitīna oksigenāzes CntA un tās aktivējošā enzīma NADH atkarīgās FAD reduktāzes CntB gēni. Visi 6 gēni tika ievietoti pET ekspresijas plazmīdā, attiecīgie enzīmi uzprodukti *E. coli* un attīrīti ar metālafinitātes, gēlfiltrācijas un jonapmaiņas hromatogrāfiju palīdzību. Visiem 3 enzīmu pāriem tika apstiprināta enzīmātiskā aktivitāte. Tomēr, divkomponentu sistēmas sarežģītības dēļ enzīmātisko pētījumu rezultāti bija grūti reproducējami. Saskaņā ar literatūras datiem, līdzīgam divkomponentu enzīmam stahidrīna demetilāzei reduktāzes subvienību bija iespējams aizvietot ar nātrija ditionītu. Analoga stratēģija tika sekmīgi adaptēta CntA enzīmiem, tādejādi ievērojami atvīlojot turpmākos pētījumus ar substrātiem un inhibitoriem. Tika noskaidrots, ka visi CntA enzīmi kā substrātu ar līdzīgām efektivitātēm spēj izmantot karnitīnu, GBB un glicīna betaīnu. Nevienam enzīmam netika konstatēta būtiska aktivitāte, kā substrātu izmantojot holīnu, kas ir pretrunā ar dažiem literatūras avotiem, bet loģiski, ņemot vērā līdzīgu enzīmu aktīvā centra uzbūvi, kur substrāta piesaistei ir nepieciešams tā pozitīvs lādiņš.

Visiem 3 CntA enzīmiem tika testēti aptuveni 1000 dažādi kristalizēšanās apstākļi 3 dažādās temperatūrās – kopumā aptuveni 10 000 dažādu apstākļu. Kristāli tika iegūti tikai *P. rettgeri* CntA enzīmam. No kristāliem Bessy sinhrotronā Berlīnē ir savākti dati līdz 3.2 Å izšķirtspējai. Šobrīd norisinās darbs pie trīsdimensionālās struktūras aprēķiniem.

Paralēli tika turpināts darbs inhibitoru meklējumiem *K. pneumoniae* CutC-CutD holīna liāzei, kuras katalītiskās CutC subvienības trīsdimensionālā struktūra tika

noskaidrota projekta iepriekšējā posmā. CutC aktīvais centrs pilnībā ietver holīna molekulu un ir ļoti noslēgts, tādēļ inhibitoru dizains ir apgrūtināts. Literatūrā aprakstītais CutC inhibitors dimetilbutanols neizrādīja nekādas inhibējošas spējas, savukārt divi holīna metilatvasinājumi izrādījās enzīma substrāti.

Tā kā karnitīns ir viena no tām izejvielām, no kuras kuņģa – zarnu trakta baktērijas ražo potenciāli kaitīgā TMAO priekštecī trimetilamīnu, tad ir būtiski atrast arī jaunus karnitīna biosintēzes inhibitorus. Tāpēc 3. posmā tika veikta sistemātiska epsilon-trimetillizīna hidroksilāzes (TMLH) potenciālo inhibitoru izpēte ar KMR metodes palīdzību. Pārbaudīti 22 trimetillizīna (TML) analogi, kas sintezēti Latvijas Organiskās sintēzes institūtā (LOSI). Enzimātiskā reakcija parādīja, ka 14 no 22 TML strukturāli līdzīgo savienojumu stājas beta-oksidēšanās reakcijā. No tiem 9 savienojumiem bija novērota arī IC_{50} aktivitāte. Gadījumos, kad testējamais savienojums ir stereoizomēru maisījums, reakcija ir stereospecifiska. Iespējams, ka daži no ligandiem „saindē” enzīmu, jo oksidēšanās reakcijas iznākumi nav kvantitatīvi, kofaktoru koncentrāciju un attiecību variācijas iznākumu neietekmē. Visi 14 savienojumi ar IC_{50} aktivitāti uzrādīja saistību vismaz 2 KMR saistības eksperimentos. Atšķirībā no GBBH pētījumiem, kur vislabākos rezultātus deva $T_{1\rho}$ eksperimenti, šeit visjūtīgākie bija STD un WaterLOGSY eksperimenti. Ģenerēti vairāki TMLH homoloģiski modeļi: galvenās atšķirības saistītas ar savstarpējo struktūras elementu izkārtojumu. Izveidots 7-kārtīgs gamma-butirobetaīna hidroksilāzes (GBBH) mutants, kurā aktīvais centrs modelē TMLH aktīvo centru. Modelis optimizēts ar MD palīdzību un noņemti spriegumi aktīvajā centrā, kas ļāva sekmīgi novietot TML molekulu gamma-butirobetaīna (GBB) aktīvajā centrā. Veiktas 60-80 ns ilgas MD simulācijas TMLH dimēra un 7x-GBBH mutanta dažādiem modeļiem ūdens vidē. Izstrādāts protokols, kas ļauj simulēt metālo-enzīmus ar molekulārās mehānikas palīdzību. Rezultātā izdevās panākt aktīva centra konfigurācijas saglabāšanos visā MD laikā. Molekulārais dokings veikts izmantojot gan TMLH homoloģisko modeli, gan dažas TMLH struktūras no MD, gan arī ar 7x-GBBH mutantu. Izdevās atrast sekmīgus modeļu un dokinga parametrus, kas ļāva sagrupēt ligandus trijās grupās (aktīvie, mazaktīvie un neaktīvie) balstoties uz *Enrichment Factor* ($EF = GScore/smago$ atomu skaits ligandā) vērtībām. Iegūtie rezultāti dod jaunas zināšanas par to, kā veidojami potenciālie TMLH inhibitori, kas varētu kalpot kā jauni sirds-asinsvadu sistēmas zāļu vielas.

Kā viena no zāļu vielām, kas samazina tādu aterosklerozi veicinošu metabolītu kā triglicerīdi līmeni asinīs, ir niacīns. Tāpēc ir būtiski noskaidrot niacīna receptora iespējamus ligandus, ar kuru palīdzību, iespējams, varētu kontrolēt aterosklerozes attīstību. Tāpēc nākošā apakšprojekta mērķis bija dizainēt un sintezēt niacīna un īso ķēžu brīvo taukskābju receptoru potenciālos ligandus to aktivitātes izvērtēšanai, kā arī konstruēt un iegūt HCA2 receptora agonistus 2-(3-arylpropānamido)-cikloheks-1-ēnkarbonskābes atvasinājumu rindā. 3. VPP posmā šajā apakšprojektā tika iegūti īso ķēžu brīvo taukskābju ligandi, kuri veido divas jaunas šo receptoru ligandu klases. Konstatēta līdzība un atšķirība FFAR3, FFAR2, HCA2 ligandu grupu specifiskumā. Veikti pētījumi par 2-amidocikloheks-1-ēnkarbonskābju saturošo savienojumu linkera ietekmi uz HCA2 aktivēšanas spēju. Ir iegūti savienojumi ar enīna, feniletīl, dubultsaites un trīskāršās saites linkeriem, kuriem piemīt nanomolāra aktivitāte, kas nozīmē, ka šādi savienojumi ir uzskatāmi par lidersavienojumiem un potenciāliem zāļu izstrādes kadidātvielām lipīdu vielu maiņas traucējumu ārstēšanai.

Diabēta izcelsmes patoģenētiskajiem faktoriem un tā ārstēšanas efektivitātes problēmām veltīti nākošie divi apakšprojekti. Pirmais no tiem bija vērsts uz

proteasomu gēna *PsmA6* ekspresijas izmaiņu izpēti cukura diabēta indukcijas laikā. Tika izpētīta metkarabtona, etkarabtona, stirilkarabtona un glutapirona AV-153-Na ietekme uz *PsmA6* gēna ekspresiju žurku nierēs un asinīs. Ekspresija bija daudz augstāka nierēs, salīdzinot ar asinīm. Pēc cukura diabēta indukcijas ekspresija nierēs vēl pastiprinājās, bet asinīs neizmainījās. Visi pētītie 1,4-DHP paaugstināja gēna ekspresiju nierēs kontroles dzīvniekiem. Asinīs ekspresiju stimulēja tikai glutapirons. Cukura diabēta modelī visi 1,4-DHP izņemot etkarabtonu stimulēja *PsmA6* gēna ekspresiju, bet AV-153 palielināja to arī asinīs.

Pierādīts, ka 1,4-DHP spēj samazināt DNS bojājumu marķiera γ H2AX ekspresiju šūnās, B-limfocītos ar transficētu Tat proteīnu. Ar AV-153-Na un AV-153-Mg efektu var panākt pie 25 nM, AV-153-Ca un AV-153-K - 50 nM, J-9-125 un PP-544-Na - 100 nM, ar metkarabtonu un glutapironu - 500 nM. Tas, savukārt, norāda uz to, ka šīs klases vielas varētu kalpot par izejas savienojumiem jaunu diabēta ārstēšanas līdzekļu izstrādei.

Tā kā cukura diabēta ārstēšanas efektivitāte ar tādiem cukura līmeni pazeminošiem līdzekļiem kā metformīns joprojām ir tālu no vēlamās, tad bija ļoti būtiski noskaidrot, kādi ir tie faktori, kas veicina rezistenci pret metformīnu, pieņemot, ka tam varētu būt saistība ar zarnu mikrobiotas izmaiņām metformīna lietošanas ietekmē. Lai analizētu zarnu mikrofloras, DNS metilēšanas profila un gēnu ekspresijas izmaiņas, kas rodas metformīna lietošanas ietekmē, tika izmatots un papildināts iepriekš uzsāktais klīniskais pētījums ar 22 veselajiem indivīdiem. 16S un metagenoma analīze izmantojot NGS tika veikti fēču paraugos, kas iegūti no 18 dalībniekiem pirms metformīna lietošanas uzsākšanas, vienu dienu un 7 dienas pēc metformīna lietošanas (ar devu 1700 mg metformīna dienā). Veicot uz 16S rRNS nākošās paaudzes sekvenēšanas bāzētu zarnu mikrofloras profilēšanu atklāts, ka jau pēc vienas dienas metformīna terapija statistiski būtiski samazina indivīdu zarnu mikrobioma iekšējo daudzveidību. Šādi samazināta daudzveidība saglabājas arī paraugos pēc 7 dienām. Vienlaicīgi ar iekšējās daudzveidības samazināšanos tika novērots statistiski būtisks īpatsvara pieaugums vairākām oportūnistiski patogēnām baktēriju grupām no *Escherichia-Shigella* ģints, kas izskaidrotu ar metformīna lietošanu saistīto gastrointestinālo blakņu rašanos. Veicot paraugu taksonomisko vienību kompozīcijas izmaiņu analīzi, tika noskaidrots, ka metformīna lietošanas ietekmē statistiski būtiski samazinās neklasificētas ģints no Ruminococcaceae dzimtas īpatsvars, kā arī *Barnesiella* ģints baktērijas. Paralēli 16 pētījuma dalībniekiem veikta zarnu mikrofloras metagenoma analīze, kas raksturo mikroorganismu bioķīmisko procesu izmaiņas metformīna ietekmē atklājot statistiski būtiskas izmaiņas vairākos baktēriju metabolajos ceļos, kā arī gēnu saimju pārstāvniecībā. Ņemot vērā apjomīgos nepieciešamos skaitļošanas resursu trūkumu, Metagenoma datu analīze vēl joprojām tiek turpināta. Iegūtie dati tiks alāgojoti ar 16S RNS gēnu sekvenēšanas rezultātiem.

Lai analizētu DNS metilēšanas profila un gēnu ekspresijas izmaiņas, tika lietoti 12 cilvēku paraugi no iepriekš minētā pētījuma izmantojot asins paraugus, kas iegūti pirms metformīna lietošanas, 10 stundas un 7 dienas pēc metformīna lietošanas. Veicot DNS metilācijas analīzi ar Illumina 450 beadchip pētījums ir ļāvis pirmo reizi parādīt, ka metformīns būtiski izmaina metilēšanas profilu baltajās asinīs šūnās. Identificējot metilācijas izmaiņas, kas lielākas par 3% vismaz 50 CpG lokusus ar augstu statistisko ticamību ($P=1^{-8}$ līdz 10^{-12}). Globālie metilācijas analīzes dati parāda, ka demetilēšana metformīna ietekmē S paraugos ir izteiktāka nekā palielināta metilēšana. Metilēšanas analīze uzrādīja būtiskas izmaiņas CpG, kas saistīti ar proinsulīna un insulīnam līdzīga augšanas faktora 2 lokusu, gēnos, kas atbild par

tauskābju transportu, kā arī ar mitohondriālajiem procesiem un onkoģenēzi saistītos gēnos. Iegūtie rezultāti var kalpot jaunu metformīna efektivitātes marķieri izveidei, kā arī un atklāt metformīna molekulāros mērķus, kas līdz šim pilnībā noskaidroti dodot iespēju identificēt jaunus zāļu mērķus.

Savukārt divi klīniskie pētījumi tika koncentrēti uz to, lai noskaidrotu, kāda tad ir TMAO loma iespējamo kardio-vaskulāro komplikāciju ģenēzē dažādu endokrīno patoloģiju gadījumā. Īstenojot šo ieceri 3. posmā tika papildinātas divas kardiovaskulāro pacientu grupas:

A. Šķērszgriezuma pētījumā "Trimetilamīna N-oksīda un acilkarnitīnu koncentrācijas asinīs saistība ar insulīna rezistenci pacientiem ar augstu kardiovaskulāro risku" ir papildus iekļauti 150 pacienti, kopā veidojot 300 pacientu grupu. 2016. gada pavasarī veikta datu analīze par pirmajiem 68 pacientiem. Tiek konstatēta tendence uz augstāku TMAO līmeni pacientiem ar metabolisko sindromu, kas atbalsta iepriekš izvirzīto hipotēzi par TMAO asociāciju ar insulīna rezistenci. Augstāks TMAO līmenis tika novērots arī pacientiem, kas lietoja dihidropiridīnu grupas medikamentus un diurētiskus. Ir veikti TMAO mērījumi visiem 300 pacientiem.

B. Prospektīvā pētījumā "Statīnu terapijas ietekme uz trimetilamīna N-oksīda un acilkarnitīnu koncentrāciju asinīs" kopumā iekļauti 40 pacienti, no kuriem 22 pacientiem ir pabeigta pēdējā (3. mēneša) vizīte, 13 pacienti izslēgti no pētījuma vai paši atteikušies, un 5 pacientiem vēl plānotas pēdējās vizītes. Kopā veiktas 117 vizītes (ieskaitot tos, kas atteicās no turpmākas dalības). LU MF Izanalizēti pirmo 12 pacientu dati. Tā kā sākotnējās starpanalīzes grupa bija neliela, netika konstatētas staitiski ticamas izmaiņas 1 mēneša laikā, lai gan bija vērojama tendence uz augstāku TMAO pēc 1 nedēļas un zemāku TMAO līmeni pēc 1 mēneša kopš statīna terapijas uzsākšanas brīža. Šīs pacientu grupas papildināšana notiek lēnāk nekā plānots, jo pētījuma raksturs ir prospektīvs, kā rezultātā pacienti bieži nepiekrīt atkārtotām vizītēm. Jāuzsver, ka tiek iekļauti tikai pacienti, kas iepriekš nav saņēmuši statīnus, kas arī ierobežo potenciālo kandidātu loku. 2016. gada rudenī TMAO analīzes ir veiktas 27 pacientiem ar vismaz 1 mēneša novērojumu (vismaz 3 paraugiem), un šo datu statistiskā analīze ir procesā. Tiek plānots noteikt acilkarnitīnu līmeņus un to dinamiku statīnu terapijas rezultātā.

Lai uzlabotu dažādu profilaktisko pasākumu efektivitāti endokrīno un ar tām saistīto saslimšanu jomā projekta ietvaros uz Latvijā veiktu apsekojumu datu bāzes veidotas nacionālās rekomendācijas joda nodrošinājuma uzlabošanai Latvijā. Joda deficīts un ar joda deficītu saistītās saslimšanas ir pazīstamas sen, taču vēl joprojām šī problēma ir aktuāla lielā daļā pasaules. Ir veikts pētījums grūtniecēm Latvijā, kur noteiktā jodūrijas mediāna bija 80,8 $\mu\text{g/g}$ Cr, kas norāda uz nozīmīgu joda deficītu, un šie dati liecina, ka joda deficīts ir bijis jau pirms grūtniecības iestāšanās. Turklāt jodūrijas līmenis zem Pasaules Veselības organizācijas rekomendētā 150 $\mu\text{g/g}$ Cr grūtniecības laikā novērots vairāk nekā 80 % pētījuma dalībnieču. No tā izriet, ka lai sasniegtu palielināto joda pieprasījumu grūtniecības laikā, grūtniecēm pēc iespējas agrāk jāsāk lietot uztura bagātinātājus, kas satur vismaz 150 μg joda. Visām reproduktīvā vecuma sievietēm jāiesaka palielināt joda uzņemšanu ar ēdienu, lietojot jodēto sāli un produktus, kas satur daudz joda: jūras veltes, pienu un piena produktus. Tomēr joda saturs pienā ir ļoti atšķirīgs. Tādēļ veikts pētījums, lai noskaidrotu joda saturu Latvijas lielveikalos pieejamā pienā. Vidējā joda koncentrācija piena paraugos bija $420,7 \pm 179,6$ $\mu\text{g/L}$. Turklāt, jo augstāks piena un piena produktu patēriņš, jo augstāka bija arī jodūrija. Tātad piens un piena produkti ir svarīgi joda avoti Latvijā. Ņemot vērā šos

datu, varam veidot efektīvākas joda deficīta profilakses programmas, piemēram, piena programmu skolās.

Pētījuma rezultāti tiek diskutēti nacionālajās veselības aprūpes speciālistu asociācijās, lai veidotu vienotu stratēģiju joda deficīta profilakses programmai Latvijā.

		Plānots 2014. – 2017.g.	3.posms (atbilstoši programmas aprakstam)	3.posms (atbilstoši līgumam par 3.posma īstenošanu)	Projekts Nr. 2.6		Projekts Nr. 2.7		Projekts Nr. 2.8		Projekts Nr. 2.9	
					Plānots	Faktiski	Plānots	Faktiski	Plānots	Faktiski	Plānots	Faktiski
1000– 9000*	IZDEVUMI – KOPĀ	1 034 165	284 075	245386	23712	23712	12934	12934	101316	101316	29820	29820
1000	Atlīdzība	675 044	190 612	171896	20812	19415	9679	9429	61172	56559	24427	22983
2000	Preces un pakalpojumi (2100 + 2200)	319 634	87 463	73490	2900	3484	3255	3505	40144	44757	5393	6837
2100	Mācību, darba un dienesta komandējumi, dienesta, darba braucieni	14 204	3900	7011	0	0	1000	989	3000	1555	1011	2277
2200	Pakalpojumi	135 025	37 556	26225	2257	2281	1177	1694	10132	10371	4382	4510
2300	Krājumi, materiāli, energoresursi, preces, med. ierīces, med. instrumenti, lab.dzīvnieki un to uzturēšana	6924	6924	6924	0	1203	0	822	0	32831	0	50
5000	Pamatkapitāla veidošana	39 487	6 000	0	0	814	0	0	0	0	0	0

* Minētie skaitļi ir budžeta finansēšanas klasifikācijas kodi.

5. Projekta Nr. 2 rezultatīvie rādītāji

(Norāda pārskata periodā plānotos un sasniegtos rezultātos rādītājus. Informāciju atspoguļo tabulā un pielikumā)

Rezultatīvais rādītājs	Plānots 2014 – 2017. g.	2016. g.		Piezīmes
		Plānots	Faktisk s	
Zinātniskie rezultatīvie rādītāji				
1. Zinātnisko publikāciju skaits:				
oriģinālo zinātnisko rakstu (SCOPUS) (SNIP > 1) skaits	8	3	6	
Oriģinālo zinātnisko rakstu (SCOPUS (SNIP≤1) skaits	11	3		
Specializētajās datu bāzēs (PubMed, CAPLUS) publicēšanai pieņemti zinātniski raksti	2	1	6	
Konferences ziņojums (tēzes)	16	4	18	+7 ziņojumi un stenda referāti
oriģinālo zinātnisko rakstu ERIH (A un B) datubāzē iekļautajos žurnālos vai konferenču rakstu krājumos				
recenzētu zinātnisku monogrāfiju skaits				
2. Programmas ietvaros aizstāvēto darbu skaits:			2	
promocijas darbu skaits	3			
maģistra darbu skaits	3			
3. Prospektīvs 2TD pacientu klīniskais pētījums 300 pacientiem	1			
4. Pārskats par iesaistīto pacientu antropometriskajiem mērījumiem un klīniski nozīmīgākajiem terapijas parametriem	4	1	1	575 pacientiem izveidots pārskats (klīniskie un antropometriskie dati, bioķīmiskās analīzes, atkārtoto vizīšu skaits un struktūra)
5. Ģenētiskā un metabolītu profila analīze klīniski stratificētās 2TD pacientu grupās (>15 SNP un metabolītu analīze) atkarībā no pētījuma vajadzībām	1			
6. Sagatavoti metodiku apraksti un gēnu testi	5	1	1	Izstrādāta metodika DNS metilēšanas noteikšanai mērķa gēnu rajonos
7. Izveidoti personalizētās terapijas algoritmi	5	1	1	Izveidots individualizētās terapijas algoritmus terapijas koriģēšanai ņemot vērā no mikrobioma un DNS metilēšanas pētījumiem iegūto informāciju

8. Identificētu un vismaz 15 pacientu grupā verificētu biomarkieru komplekts	1			
9. Jaunsintezētu un raksturotu ligandu komplekts	1			Sintezēts un raksturots ligandu komplekts:(Duburs)
Programmas popularizēšanas rezultatīvie rādītāji				
1. Programmas gaitas un rezultātu popularizēšanas interaktīvie pasākumi, kuru mērķu grupās iekļauti arī izglītojamie, skaits:				
konferences	16	4	7	
semināri	4	1	1	
rīkotie semināri	1			
populārzinātniskas publikācijas	3	1		
izstādes				
2. Zinātnieku nakts pasākumi, kuros būs pieejama informācija par VPP pētījumiem	4	1	1	Zinātnieku nakts 2016 BMC (30.09.2016.) Populārzinātniska lekcija par zarnu mikrofloru „Kur paliek tas, ko ēdam?”
Tautsaimnieciskie rezultatīvie rādītāji				
1. Zinātniskajai institūcijai programmas ietvaros piesaistītā privātā finansējuma apjoms:				
1.1. privātā sektora līdzfinansējums programmā iekļauto projektu īstenošanai				
1.2. ieņēmumi no programmas ietvaros radītā intelektuālā īpašuma komercializēšanas (rūpnieciskā īpašuma tiesību atsavināšana, licencēšana, izņēmumu tiesību vai lietošanas tiesību piešķiršana par atlīdzību)				
1.3. ieņēmumi no līgumdarbiem, kas balstās uz programmas ietvaros radītajiem rezultātiem un zinātības	500 000	125 000		
2. Programmas ietvaros pieteikto, reģistrēto un spēkā uzturēto patentu vai augu šķirņu skaits:				
Latvijas teritorijā	1			
ārpus Latvijas				
3. Programmas ietvaros izstrādāto jauno tehnoloģiju, metožu, prototipu vai pakalpojumu skaits, kas aprobētas uzņēmumos	1			
4. Ieviešanai nodoto jauno tehnoloģiju, metožu, prototipu, produktu vai pakalpojumu skaits				

(noslēgtie līgumi par intelektuālā īpašuma nodošanu)				
--	--	--	--	--

* Norāda pēc programmas īstenošanas.

**Līdzekļi, kas iztērēti iegādājoties materiālus u.c. (stenti), ko apmaksā privātkompānijas un tiek lietoti VPP ietvaros ar šo kompāniju ziņu.

6. Projekta Nr. 2 īstenošanas analīze

Stiprās puses	Vājās puses
<ul style="list-style-type: none"> Projektā iesaistīti augstas kvalifikācijas kā priekšklīnisko tā klīnisko pētījumu speciālisti. Labi sabalansēts izpildītāju sastāvs, piesaistot kā pieredzējušus zinātniekus, tā jaunus zinātniekus un studentus. Apakšprojekti ir komplementāri un to izpildītāji efektīvi sadarbojas. Tiek veikti kā fundamentālie, tā klīniskie pētījumi 	<p>Nepietiekamais finansējums kavē projekta izpildi iecerētajā apjomā. Daudzi izpildītāji strādā uz nelielām daļslodzēm.</p> <p>Vispārējā situācija zinātnisko institūciju finansējumā izsauc kadru aizplūšanu un pārorientēšanos uz citu projektu īstenošanu</p>
Iespējas	Draudi
<ul style="list-style-type: none"> Attīstīta infrastruktūra un sadarbība dažādu projektā iesaistīto zinātnisko institūciju nodrošina augstu zinātnisko kvalitāti veiktajam pētījumam Jauno pētnieku un studentu piesaiste sekmē zinātnes nozares tālāku attīstību un ilgtspēju Pētījumi paver iespējas izstrādāt jaunas pieejas kā slimību diagnosticēšanā, tā to patoģenēzes molekulāro mehānismu noskaidrošanā un jaunu zāļu vielu un ārstēšanas metožu izstrādē un to efektivitātes paaugstināšanā Pētījumu rezultāti sekmē sabiedrības veselības ilgtspēju 	<ul style="list-style-type: none"> Speciālistu aizplūde uz projektiem ar augstāku darba samaksu (ERAF, Horizonts 2020 u.c. ES finansētie projekti) Zinātnisko institūcija nespēja līdzfinansēt projektu apstākļos, kad netiek nodrošināts projekta finansējums no VPP līdzekļiem apdraud atsevišķu apakšprojektu īstenošanas iespējas

7. Projekta Nr. 2 identificētie riski un to samazināšanas vai novēršanas pasākumi

Tieši projekta kopējo uzdevumu neizpildes riski nav konstatēti. Pateicoties projektā iesaistīto zinātnisko institūciju līdzfinansējumam, sasniegti augstāki rezultatīvie rādītāji nekā paredzēts projekta iesniegumā. Atsevišķu apakšprojektu izpildes nodrošināšanai tiek izvirzīti konkrēti darba uzdevumi nākošajam periodam un veikta regulāra to izpildes kontrole.

Projekta Nr.2 vadītājs: _____ Ivars Kalviņš _____
 (paraksts) (datums)

Zinātniskās institūcijas vadītājs: _____

(paraksts)

(datums)

Rezultatīvie rādītāji

Zinātniskie raksti (SNIP >1)

1. L.Zaharenko et. al Single nucleotide polymorphisms in the intergenic region between metformin transporter OCT2 and OCT3 genes are associated with short-term response to metformin monotherapy in type 2 diabetes mellitus patients, Eur J Endocrinol. 2016 Sep 8. pii: EJE-16-0347
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27609360> (Proj. 2.8.)
2. K.Zhou et.al Variation in the glucose transporter gene SLC2A2 is associated with glycemic response to metformin. Nat Genet. 2016 Sep;48(9):1055-9. doi: 10.1038/ng.3632 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27500523> (Proj. 2.8.)
3. Ošiņa K, Rostoka E, Sokolovska J, Paramonova N, Bisenieks E, Duburs G, Sjakste N, Sjakste T. 1,4-Dihydropyridine derivatives without Ca²⁺-antagonist activity up-regulate Psmα6 mRNA expression in kidneys of intact and diabetic rats. Cell Biochem Funct. 2016;34(1):3-6. (Proj. 2.7.)
4. Ošiņa K, Rostoka E, Isajevs S, Sokolovska J, Sjakste T, Sjakste N. Effects of an Antimutagenic 1,4-Dihydropyridine AV-153 on Expression of Nitric Oxide Synthases and DNA Repair-related Enzymes and Genes in Kidneys of Rats with a Streptozotocin Model of Diabetes Mellitus. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2016; 119(5):458-463. (Proj. 2.7.)
5. Leonova E, Sokolovska J, Boucher JL, Isajevs S, Rostoka E, Baumane L, Sjakste T, Sjakste N. New 1,4-Dihydropyridines Down-regulate Nitric Oxide in Animals with Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus and Protect DNA against Peroxynitrite Action. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2016;119(1):19-31. (Proj. 2.7.)
6. Dambrova M, Latkovskis G, Kuka J, Strele I, Konrade I, Grinberga S, Hartmane D, Pugovics O, Erglis A and Liepinsh E. Diabetes is Associated with Higher Trimethylamine N-oxide Plasma Levels. Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association. 2016;124:251-6. SNIP 0.590, PubMed (Proj. 2.2., 2.3., 2.5.)

Specializētajās datu bāzēs publicēšanai pieņemti zinātniski raksti

1. M. Makrecka-Kuka, K. Volska, U. Antone, R. Vilskersts, S. Grinberga, D. Bandere, E. Liepinsh, M. Dambrova. Trimethylamine N-oxide impairs pyruvate and fatty acid oxidation in cardiac mitochondria (Proj. 2.2., 2.3)
2. E. Liepinsh, E. Makarova, E. Sevostjanovs, D. Hartmane, H. Cirule, O. Zharkova-Malkova, S. Grinberga, M. Dambrova. Carnitine and γ -butyrobetaine stimulate elimination of meldonium due to competition for OCTN2-mediated transport. (Proj. 2.2., 2.3)
3. I.Konrade, I.Kalere, I. Strele, M. Makrecka-Kūka, V. Veisa, D. Gavars, D. Rezeberga, V. Pīrāgs, A.Lejnieks, L. Neimane, E. Liepinsh, M. Dambrova "Iodine

- deficiency in Latvia: current status and need for national recommendation
 “«Proceedings of the Latvian Academy of Science»» (Proj. 2.4., 2.2., 2.3.)
4. L. V. Neimane, I. Konrade, G. Avotina, A. Klavina, J. Zagorska, I. Martinsone, V. Cauce, V. Baylon, A. Lejnicks “Evaluation of Iodine concentration in cow milk in Latvia” «Proceedings of the Latvian Academy of Science» (Proj. 2.4.)
 5. T.Dujic et al., No association of variants I membrane transporter genes with glucaemic response to metformin in type2 diabetes: a MetGEN meta-analysis. Accepted for publication in *Clinical Pharmacology&Therapeutics* (Proj. 2.8.)
 6. A. Krauze, Z. Andzans, G. Duburs Synthesis and enantioselective lipase-catalysed kinetic resolution of 6-isobutyryloxymethylsulfanyl-1,4-dihydropyridines. Submitted to “Heterocyclic Communications” (Proj. 2.6.)

Konferenču tēzes

1. E. Rostoka, K. Ošiņa, S. Isajevs, E. Bisenieks, N. Sjakste. *Jaunu 1,4-DHP atvasinājumu DNS molekulas integritāti pasargājošo un antioksidatīvo īpašību izvērtējums 1. tipa cukura diabēta apstākļos žurkās. Latvijas Universitātes 74. konferences Medicīnas sekcijas Tēzes/Abstracts, Rīga 2016. 61. lpp.* (Proj. 2.7.)
2. Leonova, E. Rostoka, S. Saivaigo, L. Baumane, V. Borisivs, Y, Bou Sada, E. Bisenieks, Y. Vassetzky, G. Duburs, N. Sjakste Oxidative stress reduction and DNA repair enhancement by 1,4-dihydropyridine AV-153. Daugavpils Universitātes 58. Starptautiskās zinātniskās konferences tēzes. Abstracts of the 58th International scientific conference of Daugavpils University. Daugavpils Universitātes Akadēmiskais apgāds “Saule” 2016, P. 98-99 (Proj. 2.7.)
3. K. Ošiņa, E. Rostoka, T. Sjakste, N. Sjakste Psmα6 gene expression is affected by 1,4-dihydropyridine derivatives in rat kidneys and blood in streptozotocin induced diabetes mellitus. Daugavpils Universitātes 58. Starptautiskās zinātniskās konferences tēzes. Abstracts of the 58th International scientific conference of Daugavpils University. Daugavpils Universitātes Akadēmiskais apgāds “Saule” 2016, P. 99-100 (Proj. 2.7.)
4. E. Rostoka, L. Baumane, S. Isajevs, N. Sjakste. *Modification of NO production and NOS expression by polyphenols 6th Global Summit on Medicinal and Aromatic Plants, May 23-26, 2016, Radisson Blu, Riga, Latvia. Programme & Abstracts. P.34* (Proj. 2.7.)
5. N. Sjakste, E. Leonova, L. Baumane, E. Rostoka DNA binding properties of a series of novel derivatives of 1,4-dihydropyridine. International Conference on Environmental and occupational Health ICOETOX, Porto, June 20-24, 2016. Abstract Book. P.82 (Proj. 2.7.)
6. P15 T. Sjakste, K. Ošiņa, E. Rostoka E. Modification of genes involved in DNA repair and nitrosative stress by 1,4 –dihydropyridienes. International Conference on Environmental and occupational Health ICOETOX, Porto, June 20-24, 2016. Abstract Book. P.83 (Proj. 2.7.)
7. Latkovskis G., Mazule M., Bondare L., Konrade I., Makarova E., Hartmane D., Strele I., Dambrova M. Trimethyl-amine-N-oxide levels in patients with metabolic syndrome. 12th Warsaw international medical congress. Abstract book. Warsaw, Poland. 12-15.05.2016. (Proj. 2.5., 2.2., 2.4.)

8. Zelencova, D.; Liepinsh, E. Inhibitor Studies of ϵ -Trimethyllysine Hydroxylase by Means of NMR and Computer Modelling. *Euromar 2016*. April 3-8, Aarhus, Denmark, 2016, 433. (Proj. 2.3.)
9. Zelencova, D.; Liepinsh, E. Structural Models and Binding Studies of Epsilon-Trimethyllysine Hydroxylase. *RTU 57th International Scientific Conference "Materials Science and Applied Chemistry"*. October 21, 2016, Riga, Latvia, 2016, 196-200. . (Proj. 2.3.)
10. Makarova E, Zariņa R, Muceniece R, Hartmane D, Kūka J, Liepiņš E, Dambrova M. Plazmas trimetilamīna N-oksīda koncentrācijas novērtēšana eksperimentālajā 2. tipa diabēta modelī. *LU 74. zinātniskā konference, Medicīnas bāzes zinātnes un reģeneratīvās medicīnas sekcija*, Rīga, Latvija, 19. februāris, 2016. gads, Tēzes, 66. lpp. (Proj. 2.2., 2.3.)
11. Makrečka-Kūka M, Kūka J, Voļska K, Vilšķērsts R, Bandere D, Dambrova M. Trimetilamīna N-oksīda ietekme uz mitohondriālo enerģijas metabolismu. *RSU 2016. gada zinātniskā konference, Latvijas iedzīvotāju veselību apdraudošo eksogēno un endogēno faktoru izpēte*. Rīga, Latvija, 17. un 18. marts, 2016. gads. Tēzes 69.lpp. (Proj. 2.2., 2.3.)
12. Kuka J, Makrečka-Kuka M, Liepinsh E, Dambrova M. Trimethylamine N-oxide impairs substrate oxidation in heart mitochondria. *Mitochondrial Medicine: developing new treatments for mitochondrial disease 2016*, Hinxton, Cambridge, UK, May 4-6, 2016, Abstracts P56. (Proj. 2.2., 2.3.)
13. Liepinsh E, Kuka J, Dambrova M. Long chain acylcarnitines: new target to prevent ischemia-reperfusion induced damage in heart mitochondria. *Mitochondrial Medicine: developing new treatments for mitochondrial disease 2016*, Hinxton, Cambridge, UK, May 4-6, 2016, Abstracts P58. (Proj. 2.2., 2.3.)
14. Dambrova M, Volska K, Makrečka-Kuka M, Makarova E, Kuka J, Vilskersts R, Liepinsh E. Cardioprotective effects of pharmacologically decreased long-chain acylcarnitine contents in experimental models of myocardial infarction, atherosclerosis, and diabetes. *The 7th European Congress of Pharmacology (EPHAR2016)*, Istanbul, Turkey, June 26-30, 2016, Abstract book, CO48, P 81-82. (Proj. 2.2., 2.3.)
15. Makarova E, Makrečka-Kuka M, Grinberga S, Dambrova M, Liepinsh E. Accumulation of acylcarnitines is related to insulin resistance in diabetic Db/db and high fat diet-fed mice. *FEBS, Molecular basis of human diseases: 50 years anniversary of Spetses summer schools*, Spetses, Greece, May 27 – June 1, 2016, Abstracts, P.55. (Proj. 2.2., 2.3.)
16. Makrečka-Kuka M, Kuka J, Volska K, Makarova E, Sevostjanovs E, Dambrova M, Liepinsh E. Long-chain acylCoAs vs acylcarnitines in mitochondrial bioenergetics: from in vitro to in vivo. *MitoFit Science Camp 2016*, Kuhtai, Austria, July 7-13, 2016. http://www.bioblast.at/index.php/Makrečka-Kuka_2016_Abstract_MitoFit_Science_Camp_2016 (Proj. 2.2., 2.3.)
17. Muižniece E (Scientific supervisor: Vilskersts R) Effect of acylcarnitine administration on the development of atherosclerosis and skin microcirculation. *RSU International Student Conference in Health and Social Sciences*, Riga, Latvia, March 16, 2016 (Proj. 2.2., 2.3.)

18. Volska K, Liepinsh E, Makarova E, Makrečka-Kuka M, Kuka J, Dambrova M. Mitochondrial damage induced by the accumulation of acyl-coenzymes A and acylcarnitines during ischemia. *FEBS workshop, Coenzyme A and its derivatives in health and disease*, Marseille, France, August 23 – 27, 2016, Congress book, P.51. (Proj. 2.2., 2.3.)

Uzstāšanās konferencēs

1. N. Sjakste Unusual effects of unusual 1,4-dihydropyridines, Profesora G. Vanaga 125 gadu piemiņas Starptautiskā konference organiskajā un medicīnas ķīmijā. (Proj. 2.7.)
2. Elbere et. al. Association of metformin treatment with gut microbiome dysbiosis in healthy volunteers . 2nd Annual European Microbiome Congress 30.11-01.12.2016 (Proj. 2.8.)
3. I.Konrāde, M. Dambrova, I. Kalere, I. Tonne, J. Kūka, R. Vilšķērsts, S. Grīnberga, E. Liepiņš. Trimetilamīna-N-oksīda (TMAO) noteikšanas preklīniskie faktori - diētas ietekme uz TMAO līmeni un interpretāciju. RSU 2016. gada zinātniskā konference (17.03.2016) (Proj. 2.4., 2.2.)
4. I.Konrade, I.Kalere, I. Strele, M. Makrečka-Kūka, V. Veisa, D. Gavars, D. Rezeberga, V. Pīrāgs, A. Lejnieks, L. Neimane, E. Liepinsh, M. Dambrova «Iodine deficiency in Latvia: current status and need for national recommendation» 2nd International Conference „Nutrition and Health” Riga, Latvia October 5-7, 2016. (Proj. 2.4., 2.2.)
5. L. V. Neimane, I. Konrade, G. Avotina, A. Klavina, J. Zagorska, I. Martinsone, V. Cauce, V. Baylon, A. Lejnieks. Evaluation of Iodine concentration in cow milk in Latvia» 2nd International Conference „Nutrition and Health” Riga, Latvia October 5-7, 2016. (Proj. 2.4.)

Stenda referāti

1. Tonne, M.Dambrova, I. Konrade, I. Kalere, J. Kūka, R. Vilšķērsts, E. Liepiņš. «Preclinical factors of trimethylamine-N-oxide (TMAO) detection: the impact of diet on TMAO level and interpretation» 8th Baltic Congress of Endocrinology (14.-15.04.2016). (Proj. 2.4., 2.2.)
2. Konrade, T. Zake, S. Skuja, I. Kalere, V. Groma. «Relationship between immunoexpression of IL17A, CD68 positivity and lymphocyte infiltration degree in Hashimoto’s thyroiditis patients». 18th European Congress of Endocrinology, Munich, Germany 28.-31.05.2016. (Proj. 2.4.)

Aizstāvētie pētniecības darbi

1. LU MF Otrā līmeņa profesionālās augstākās izglītības studiju programmas “Ārstniecība” diplomande Mairita Mažule ir aizstāvējusi diplomdarbu “Trimetilamīna-N-oksīda saistība ar metabolisko sindromu pacientiem ar paaugstinātu kardiovaskulāro risku”.
2. LU MF Otrā līmeņa profesionālās augstākās izglītības studiju programmas “Ārstniecība” diplomande Arnita Baklašova aizstāvējusi diplomdarbu “Statīnu terapijas ietekme uz trimetilamīna N-oksīda koncentrāciju asinīs”.