

VILNIAUS UNIVERSITETAS

ASTA MAŽEIKIENĖ

ANTIOKSIDANTŲ KAROTENOIDŲ TYRIMAS IR VERTINIMAS LIETUVIŲ  
POPULIACIJOJE, JŲ SVARBA ŠIRDIES IR KRAUJAGYSLIŲ LIGŲ  
ETIOPATOGENEZĖJE

Daktaro disertacija  
Biomedicinos mokslai, medicina (06 B)

Vilnius, 2016 metai

Disertacija rengta 2011–2015 metais Vilniaus universitete

**Mokslinė vadovė:**

prof. habil. dr. Zita Aušrelė Kučinskienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B)

Lietuvių kalbos redaktorė: Jolanta Storpirstienė

## TURINYS

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS.....	5
1. ĮVADAS.....	7
1.1. Tiriamoji problema.....	7
1.2. Tyrimo aktualumas, naujumas, praktinė reikšmė .....	8
1.3. Darbo tikslas.....	10
1.5. Ginamieji teiginiai.....	10
1.6. Autorės indėlis.....	11
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	12
2.1. Įvadas .....	12
2.2. Cheminė karotenoidų struktūra .....	13
2.3. Karotenoidai maiste.....	16
2.4. Karotenoidų metabolizmas. Karotenoidų apykaitoje dalyvaujantys baltymai ir juos koduojančių genų polimorfizmo vaidmuo .....	20
2.5. Karotenoidų biologinės funkcijos ir svarba ligų prevencijai .....	25
2.6. Antioksidacinis karotenoidų aktyvumas .....	27
2.7. Galimas prooksidacinis β-karoteno veikimas .....	27
2.8. Antiaterogeninis karotenoidų veikimas.....	28
2.9. Svarbiausios karotenoidų antiaterogeninio veikimo mechanizmą patvirtinančios klinikinės studijos .....	31
3. TYRIMO METODIKA.....	36
3.1. Tyrimo imtis.....	36
3.2. Tyrimo eiga ir metodikos .....	39
3.2.1. Demografinių ir gyvensenos veiksnių bei sergamumo tyrimo metodikos .....	39
3.2.2. Likopeno suvartojimo tyrimo metodika .....	41
3.2.3. Kraujo paėmimas, mėginio paruošimas, laikymas ir gabenimas .....	42
3.2.4. Karotenoidų koncentracijos kraujo serume nustatymas.....	42
3.2.5. Biocheminiai kraujo rodiklių tyrimai .....	49

3.2.6.	Genomo duomenų tyrimas .....	51
3.2.7.	Statistinė duomenų analizė .....	51
4.	TYRIMO REZULTATAI .....	53
4.1.	Karotenoidų koncentracijos kraujo serume tyrimo rezultatai .....	53
4.2.	Demografinių ir gyvensenos veiksnių sąsajos su karotenoidų koncentracija kraujo serume.....	53
4.3.	Likopeno suvartojimo tyrimas ir reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką .....	66
4.4.	Kraujo serumo karotenoidų kiekio reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką .....	70
4.5.	Demografinių ir gyvensenos veiksnių ir biocheminių kraujo rodiklių įtaka kraujo serumo karotenoidų koncentracijai .....	74
4.6.	Genomo žymenų sąsajų su kraujo serumo karotenoidų koncentracija tyrimas .....	76
5.	REZULTATŲ APTARIMAS IR DISKUSIJA .....	81
5.1.	Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo karotenoidų kiekio įvairovė ir sąsajos su gyvensenos ir demografiniais veiksniais .....	81
5.2.	Likopeno suvartojimo ypatumai, pagrindiniai maistiniai šaltiniai ir jų reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką .....	85
5.3.	Kraujo serumo karotenoidų kiekio reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką .....	87
5.4.	Genomo žymenų sąsajos su kraujo serumo karotenoidų koncentracija.....	88
6.	IŠVADOS .....	91
	LITERATŪRA .....	94
	DARBO APROBACIJA.....	113
	PADĖKA .....	118
	PRIEDAI.....	119
	APIE AUTOREŲ .....	126

## SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

ABCG5 – pernašos baltymų šeimos (angl. *ATP-binding cassette*) 5 baltymas  
Bendrasis-C – bendrasis cholesterolis  
BCDO2 –  $\beta,\beta$ -karoteno-9,10'-dioksigenazė  
BCMO1 –  $\beta,\beta$ -karoteno-15,15'-monooksigenazė  
BHT – butilhidroksitoluenas  
CD36 – 36 leukocitų diferenciacijos antigenas (angl. *cluster of differentiation*)  
DB – duomenų bazė  
DNR – deoksiribonukleorūgštis  
DTL – didelio tankio lipoproteinai  
DTL-C – didelio tankio lipoproteinų cholesterolis  
DTP – didelio tankio polietilenas  
ESCh – efektyvioji skysčių chromatografija  
FABP – sočiausias riebalų rūgštis nešantis baltymas  
GSTP1 – glutationo S-transferazė Pi 1  
HR-LBP – liuteiną prijungiantis baltymas  
*hsCRB* – didelio jautrumo (angl. *high sensitivity*) C reaktyvusis baltymas  
KMI – kūno masės indeksas  
LMC – Laboratorinės medicinos centras  
MAF – retojo alelio dažnis (angl. *minor allele frequency*)  
MeOH – metanolis  
MF – Medicinos fakultetas  
MGC – Medicininės genetikos centras  
MI – miokardo infarktas  
MMP-9 – matrikso metaloproteinazė 9  
MTBE – tert-butilmetileteris  
MTL – mažo tankio lipoproteinai  
MTL-C – mažo tankio lipoproteinų cholesterolis

NCBI – Nacionalinis biotechnologijų informacijos centras (angl. *The National Center for Biotechnology Information*)

NPC1L1 – Nimano–Piko C1- L1 tipo baltymai

$p$  – tikimybė pagrįstai priimti arba atmesti hipotezę vadovaujantis reikšmingumo lygmeniu

PA – Pietų Aukštaitija

PI – pasikliautinis intervalas, naudojamas statistikoje (angl. *CI – confidence interval*)

PSPC – pirminės sveikatos priežiūros centras

PTFE – karščiui atsparus polifluorvinilinis plastikas

PŽ – Pietų Žemaitija

RA – Rytų Aukštaitija

SPSS – statistinių programų paketas socialiniams mokslams (angl. *Statistical Package for the Social Sciences*)

SR-BI – B klasės I tipo receptorių rijikas (angl. *scavenger receptor*)

ŠKL – širdies ir kraujagyslių ligos

ŠS – šansų santykis

ŠŽ – Šiaurės Žemaitija

TAG – triacilgliceroliai

VA – Vakarų Aukštaitija

VNP – vieno nukleotido polimorfizmas (angl. *SNP – single nucleotide polymorphism*)

VšĮ – viešoji įstaiga

VU – Vilniaus universitetas

VUL SK – Vilniaus universiteto ligoninė Santariškių klinikos

VŽ – Vakarų Žemaitija

$\chi^2$  – Pirsono arba Fišerio chi kvadratu kriterijus nepriklausomumo hipotezei tikrinti

# 1. ĮVADAS

## 1.1. Tiriamoji problema

Lietuvoje jau kurį laiką daug dėmesio skiriama tradicinių širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnių paplitimo tyrimams bei jų korekcijai. Tokių tyrimų vieni iš pradininkų – prieš kelis dešimtmečius pradėti vykdyti regioniniai projektai MONICA – Širdies ir kraujagyslių ligų bei jų rizikos veiksnių stebėsenos programa (angl. *Multinational Monitoring of trends and determinants in Cardiovascular disease*) (Domarkienė ir kt. 2003) ir CINDI – Lėtinių neinfekcinių ligų integruotos profilaktikos programa (angl. *Countrywide Integrated Noncommunicable Diseases Intervention*) (Klumbienė ir kt. 2002; Grabauskas ir kt. 2008). Problemos aktualumą atspindi šiuo metu jau ne vien tik atskirų mokslininkų grupių tyrimai, bet ir visos Lietuvos mastu vykdomos valstybinės sergamumo mažinimo programos, kaip antai nuo 2006 m. vykdoma asmenų, priskirtinų ŠKL didelės rizikos grupei, atrankos ir prevencijos priemonių programa LitHiR (angl. *Lithuanian High Cardiovascular Risk primary prevention programme*), kurioje dalyvauja 94,8 % pirminės sveikatos priežiūros centrų visoje Lietuvoje (Laucevičius ir kt. 2012, 2013, 2015). Nors tradiciniai aterosklerozės rizikos veiksniai tiek visame pasaulyje, tiek Lietuvoje sudaro didžiąją ŠKL rizikos dalį (Rinkūnienė ir kt. 2012, 2013), tačiau sergamumas išlieka didelis, todėl nuolat ieškoma ir netradicinių, naujų biocheminių (Banys ir kt. 2012, 2014; Coj ir kt. 2013) ir genominių žymenų (Domarkienė ir kt. 2013) ŠKL rizikai vertinti, jų diagnostikai, o kartu ir sergamumui mažinti. Stengiamasi atsigręžti į populiacijai būdingus rizikos veiksnių derinius bei gilinamasi į ligai būdingus mechanizmus, priežastinius biologinius ligos atsiradimo kelius.

## 1.2. Tyrimo aktualumas, naujumas, praktinė reikšmė

ŠKL – tai daugiaveiksnės ligos, kurių etiopatogenezei itin reikšmingi oksidacinio streso sukelti pažeidimai. Oksidacija – žmogaus organizme nuolat vykstantis procesas, kurio metu susidaro laisvieji radikalai (LR) – nestabilios molekulės ar jų dalys, turinčios nesuporintą elektroną (Kučinskienė 2001). Jų nedidelė koncentracija būtina ląstelei normaliai funkcionuoti, nes laisvieji radikalai dalyvauja kaip antriniai signalo perdavikliai, leukocituose susidaręs vandenilio peroksidas, hipochlorito rūgštis yra aktyvūs ir stiprūs oksidatoriai, žudantys mikroorganizmus, lygiųjų raumenų ląstelėse susidaręs azoto oksidas dalyvauja reguliuojant kraujo spaudimą (Didžiapetrienė ir kt. 2011). Dėl įvairių tiek endogeninių procesų, tiek egzogeninių priežasčių – streso, uždegimo, rūkymo, alkoholio vartojimo, aplinkos užterštumo ar senėjimo – laisvųjų radikalų susidarymas intensyvėja, jie sąveikauja su ląstelių biomolekulėmis: DNR, baltymais, lipidais ir juos pažeidžia. Tai lemia oksidacinį stresą. Nustatyta daugiau nei šimtas ligų, tarp jų ir ŠKL, kurių patogenezėje dalyvauja laisvieji radikalai ir kiti reaktyvūs deguonies dariniai (Montezano ir kt. 2010; Ashor ir kt. 2014; Domej ir kt. 2014; Lobo ir kt. 2015; Cruickshank ir kt. 2015). Tačiau organizmas geba apsisaugoti nuo žalingo minėtų darinių poveikio – juos neutralizuoja įvairios fermentinės ir nefermentinės antioksidacinės sistemos. Svarbų vaidmenį atlieka su maistu gaunami antioksidantai. Todėl lėtinių ligų prevencijos programos skatina vartoti augalinės kilmės produktus, ypač vaisius ir daržoves, kuriuose gausu įvairių antioksidantų. Ypatinę vaidmenį šalinant reaktyviųjų deguonies darinių kenksmingumą, tokiu būdu slopinant oksidacinį stresą, atlieka antioksidantai karotenoidai – natūralūs augaliniai pigmentai (Ginter ir kt. 2014; Fiedor ir kt. 2014). Daugiau nei 95 % žmogaus maiste ir organizme aptinkamų karotenoidų sudaro  $\beta$ -karotenas,  $\alpha$ -karotenas, likopenas, liuteinas, zeaksantinas ir  $\beta$ -kriptoksantinas (Namitha ir kt. 2010). Biologinis karotenoidų poveikis neapsiriboja vien antioksidaciniu veikimu. Šie junginiai puikiai žinomi kaip



vitamino A pirmtakai, jie gali daryti įtaką tarpląstelinei sąveikai, ksenobiotikų metabolizmui ar imuniniam atsakui. Nors pasaulyje gausu epidemiologinių tyrimų, rodančių, jog karotenoidai yra vieni svarbiausių egzogeninių lipofilinių antioksidantų, mažinančių daugelio lėtinių neinfekcinių ligų riziką, tačiau labai mažai žinoma apie šių junginių kiekius lietuvių populiacijoje. Neabejotinai reikšmingiausias ir kone vienintelis šios srities tyrimas – bendras Lietuvos ir Švedijos mokslinis projektas „LiVicordia“, kurio metu nustatytos statistiškai reikšmingai mažesnės riebaluose tirpių antioksidantų – likopeno ir  $\beta$ -karoteno – koncentracijos Vilniaus vyrų kraujyje, palyginti su Linčiopingo tiriamaisiais (Kristenson ir kt. 1997). Antioksidantų koncentracija buvo tiriama Švedijoje.

Vykdamas tyrimą pirmą kartą Lietuvoje įdiegtas efektyviosios skysčių chromatografijos metodas (ESCh) karotenoidų kiekiui kraujyje nustatyti, ir lietuvių populiacijoje nustatytos vidutinės karotenoidų koncentracijos kraujyje, leidžiančios vertinti gautus rezultatus pagal kitų Europos šalių analogiškų tyrimų duomenis.

Taip pat reikia paminėti, jog tyrimai, patvirtinantys karotenoidų biologinį aktyvumą, dažniausiai atliekami *in vitro* bei pasitelkiant gyvūnų modelius. Tačiau mūsų supratimas apie šių junginių metabolizmą ir biologinį poveikį žmogaus organizmui yra labai ribotas. Tikėtina, jog karotenoidų rezorbcija, jų koncentracija kraujyje, bei pasiskirstymas audiniuose yra veikiami ne tik mitybos ar kitų fiziologinių veiksnių, bet ir polimorfizmų genuose, koduojančiuose lipoproteinų receptorių, lipidų pernašoje bei karotenoidų metabolizme dalyvaujančius baltymus, fermentus. Pasaulyje atlikta vos keletas tyrimų, nustačiusių su karotenoidų kiekiu žmogaus organizme asocijuotas genetines sritis ir genų variantus, kurių koduojami baltymai dalyvauja karotenoidų metabolizme ir siejami su individualaus atsako į suvartojimą įvairove. Mūsų tyrimo metu vertintos serumo karotenoidų koncentracijų sąsajos ne tik su demografiniais, gyvensenos, mitybos ar kitais epidemiologiniais veiksniais, bet ir su genotipo nulemtais požymiais. Tyrimas išskirtinis ir tuo, kad tiriamieji – lietuvių kilmės

asmenys, ir tai leido nustatyti ne mišriai, o konkrečiai populiacijai būdingas ypatybes.

Tikimės, kad tyrimo rezultatai leis geriau suprasti sąsajas tarp priklausomų nuo aplinkos ir vidinių organizmo veiksnių bei karotenoidų kiekio, palengvins epidemiologinių duomenų interpretavimą ir padės rengiant mitybos rekomendacijas, siekiant sveikatinimo poveikio.

### **1.3. Darbo tikslas**

Nustatyti vidutinę karotenoidų koncentraciją kraujyje, ją lemiančius veiksnius ir sąsajas su sergamumu širdies ir kraujagyslių ligomis bei kraujo biocheminiais šių ligų rizikos veiksniais lietuvių populiacijoje.

### **1.4. Darbo uždaviniai**

- 1) nustatyti pavienių karotenoidų ir bendrą jų vidutinę koncentraciją tiriamosios grupės asmenų kraujo serume;
- 2) įvertinti gyvenamosios bei demografinių veiksnių sąsajas su kraujo serumo karotenoidų koncentracijos įvairove;
- 3) apskaičiuoti vidutinį likopeno suvartojimą, nustatyti pagrindinius maistinius jo šaltinius, ryšį su kraujo serumo likopeno koncentracija;
- 4) nustatyti genomo žymenis, sietinus su kraujo serumo karotenoidų koncentracija;
- 5) nustatyti kraujo serumo karotenoidų koncentracijos ir su maistu gaunamo likopeno sąsajas su sergamumu širdies ir kraujagyslių ligomis bei kraujo biocheminiais šių ligų rizikos veiksniais.

### **1.5. Ginamieji teiginiai**

1. Kraujo serumo karotenoidų koncentracija yra sietina su gyvenamosios, mitybos, demografiniais ir genetiniais veiksniais.

2. Mažesnis kraujo serumo karotenoidų kiekis siejamas su didesne sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis rizika.

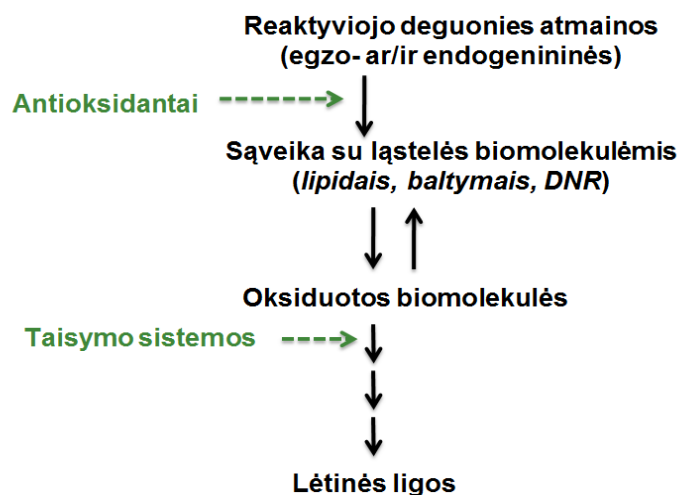
### **1.6. Autorės indėlis**

Disertantė dalyvavo vykdant tiriamosios grupės asmenų atranką – lankėsi dvidešimt devynių Lietuvos miestų ir miestelių pirminės sveikatos priežiūros centruose, rinko tiriamąją medžiagą saugojimui bei tyrimams, dalyvavo vykdant tiriamųjų anketinę apklausą. Analizavo mitybos duomenis. Disertantė per mokslines stažuotes Frydricho Šilerio universiteto Mitybos mokslų institute Vokietijoje įsisavino efektyviosios skysčių chromatografijos metodą karotenoidų koncentracijai nustatyti ir pati atliko šių analičių tyrimus Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre. Atliko statistinę duomenų analizę.

## 2. LITERATŪROS APŽVALGA

### 2.1. Įvadas

Reaktyviojo deguonies atmainų (RDA) ir kitų laisvųjų radikalų šaltiniais organizme gali būti tiek įprasti metaboliniai procesai (mitochondrijose vykstantis oksidacinis fosforilimas, fagocitozė, kintamo valentingumo metalų jonų apykaita), tiek pataloginės būklės ar aplinkos veiksniai (uždegimas, išemija, rūkymas, didelis fizinis aktyvumas, vaistai, aplinkos užterštumas) (Zadak ir kt. 2009). Kai kurie laisvieji radikalai organizmui yra naudingi, jeigu jų kiekis neviršija antioksidacinių ląstelės apsaugos galimybių. Nuo laisvųjų radikalų poveikio ląstelėje nėra apsaugota nė viena medžiaga (Kučinskienė 2001) – visos makromolekulės geba reaguoti su RDA (**1 pav.**) (Rao ir kt. 2007). Tai gali sukelti DNR aduktų susidarymą (inicijuojama kancerogenezė), baltymų skilimą (atsiranda autoimuninės reakcijos), lipidų peroksidaciją (vystosi aterosklerozė). Taigi, sutrikus oksidacinės ir antioksidacinės sistemų pusiausvyrai, organizme vystosi oksidacinis stresas, kuris gali lemti dalies lėtinių neinfekcinių ligų atsiradimą bei progresavimą.



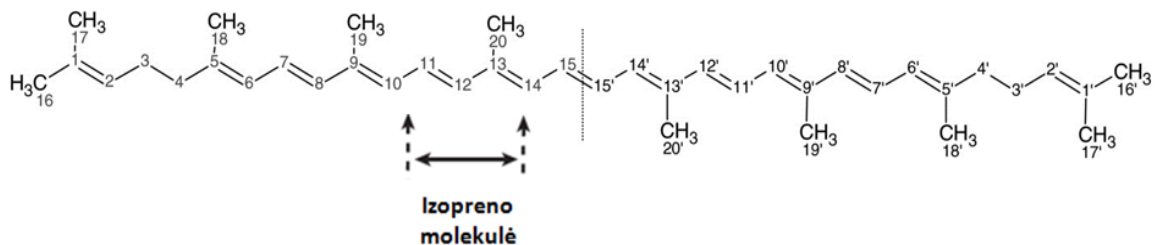
**1 pav.** Oksidacinis stresas, antioksidantai ir lėtinės ligos (pagal Rao 2007)

Esama apie 4000 fermentinių ir nefermentinių antioksidantų (Zadak ir kt. 2009), tačiau ne visi vienodai gerai geba apsaugoti organizmo makromolekules nuo minėtų darinių sukkelto poveikio. Pastaraisiais metais klinikiniai ir epidemiologiniai tyrimai daug dėmesio skiria karotenoidams, galintiems sušvelninti RDA sukeliamas pažeidas.

Gamtoje atrasta apie 700 įvairių karotenoidų, neskaičiuojant jų izomerinių formų, tačiau iš jų tik apie 50 yra žmogaus mityboje ir vos 20 randama žmogaus organizme (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006; Namitha ir kt. 2010). Daugiau nei 95 % žmogaus maiste ir organizme aptinkamų karotenoidų sudaro  $\beta$ -karotenas,  $\alpha$ -karotenas, likopenas, liuteinas, zeaksantinas,  $\beta$ -kriptoksantinas ir kantaksantinas (Namitha ir kt. 2010). Gerai žinoma šių junginių cheminė struktūra bei jų, kaip vitamino A pirmtakų, funkcijos. Tačiau vis dar trūksta duomenų apie jų metabolizmą organizme, veikimo mechanizmus, svarbą ligų prevencijai ar gydymui.

## 2.2. Cheminė karotenoidų struktūra

Karotenoidai yra keturiasdešimties anglies atomų tetraterpenų klasei priklausantys lipidai. Tai hidrofobinės molekulės, dažniausiai išsidėsčiusios ląstelių membranose (Sempa ir kt. 2007). Jų struktūros pagrindą sudaro aštuonios penkiaanglės izopreno molekulės, sujungtos „galva–uodega“, išskyrus molekulės centrą, kur minėtos liekanos jungiasi „uodega–uodega“ principu, todėl susidaro simetrinė molekulė (**2 pav.**) (Chen ir kt. 2013).



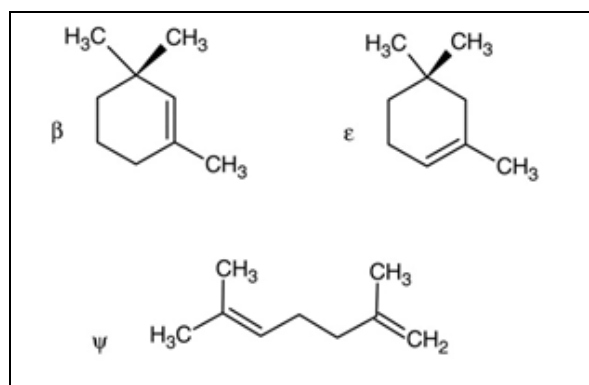
**2 pav.** Likopenas (karotenoidų struktūros pavyzdys) (pagal Chen ir kt. 2013)

Galimos įvairios bazinės struktūros modifikacijos – ciklizacija (karotenoidai gali būti aciklinės, monociklinės ar biciklinės formos), (de)hidrinimas, deguonies molekulių įjungimas, vidumolekulinis persitvarkymas, grandinės trumpėjimas ar ilgėjimas (Rodriguez-Amaya ir kt. 2004).

Būdingas karotenoidų struktūros bruožas – konjuguotos bei izoliuotos dvigubosios jungtys, kurių skaičius gali įvairuoti nuo 3 iki 15 (Namitha ir kt. 2010). Dvigubųjų jungčių skaičius lemia savitąjį šviesos sugerties spektrą bei izomerinių formų susidarymą (Rao ir kt. 2007). Dažniausiai aptinkami karotenoidų *E*- arba *Z*- konfigūracijos geometriniai stereoizomerai. *E*- formos izomeruose centre esančia dvigubąja jungtimi sujungtos karotenoido molekulės dalys yra skirtingose plokštumose, *Z*- formos – vienoje plokštumoje (Tanaka ir kt. 2012).

Pagal struktūros ypatybes karotenoidai klasifikuojami į karotenus ir ksantofilus. Karotenai – tai angliavandeniliniai karotenoidai, sudaryti iš anglies ir vandenilio, o ksantofilų struktūroje dar esti ir deguonies (**1 lent.**) (Khachik ir kt. 2002).

Sudarant sisteminius karotenoidų pavadinimus atsižvelgiama į junginių galines grupes. Atskiri jų struktūrų tipai žymimi graikiškomis raidėmis (**3 pav.**) (Namitha ir kt. 2010).



**3 pav.** Būdingiausi karotenoidų galinių grupių struktūros tipai (Namitha ir kt. 2010)

**1 lentelė.** Pagrindiniai žmogaus mityboje ir organizme esantys karotenoidai, jų klasifikacija ir struktūros (Khachik ir kt. 2002; Ferrucci ir kt. 2009)

<b>KAROTENAI:</b>	
<b><math>\alpha</math>-karotenas</b> ( $\beta, \epsilon$ -karotenas)	
<b><math>\beta</math>-karotenas</b> ( $\beta, \beta$ -karotenas)	
<b>likopenas</b> ( $\psi, \psi$ -karotenas)	
<b>KSANTOFILAI:</b>	
<b>1. Monohidroksikarotenoidai</b>	
<b><math>\beta</math>-kriptoksantinas</b> ( $\beta, \beta$ -karoten-3-olis)	
<b>2. Dihidroksikarotenoidai</b>	
<b>liuteinas</b> ( $\beta, \epsilon$ -karoten-3,3'-diolis)	
<b>zeaksantinas</b> ( $\beta, \beta$ -karoten-3,3'-diolis)	
<b>kantaksantinas</b> ( $\beta, \beta$ -karoten-4,4'-dionas)	

Karotenoidai, kurie turi nepakeistą  $\beta$ -jonono žiedą ir polieninę  $C_{11}$  grandinę, yra A vitamino pirmtakai. Struktūriškai retinolis (A vitaminas) yra pusiau padalinta  $\beta$ -karoteno molekulė, todėl pastarasis pasižymi didžiausiu provitamino A aktyvumu. Ksantofilams ir acilkliniams karotenoidams šis aktyvumas nebūdingas (Rodriguez-Amaya ir kt. 2001).

### **2.3. Karotenoidai maiste**

Karotenoidus *de novo* sintetina augalai, dumbliai, grybai, mielės ir bakterijos. Todėl šie junginiai labai paplitę augalinės kilmės produktuose. Gyvūnų organizme karotenogenezė nevyksta, todėl gyvūninės kilmės produktuose sukaupti karotenoidai yra gauti su augaliniu maistu ir jų koncentracija nėra didelė (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006; Roberts ir kt. 2009).

Augalų spalvą lemia karotenoiduose esančios dvigubosios jungtys, kurios, kaip jau minėta, geba absorbuoti regimąją šviesą. Didesnis dvigubųjų jungčių skaičius lemia geresnę raudonos šviesos bangų sugertį. Tai, kad karotenoidai augaluose yra susijungę su chlorofilu, lemia didelę augalų spalvų įvairovę. Nokstant vaisiams chlorofilo kiekis mažėja ir išryškėja karotenoidams būdinga pigmentacija (Marin ir kt. 2004; Khoo ir kt. 2011).

$\beta$ -karotenas yra labiausiai maiste paplitęs karotenoidas (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006). Jis yra oranžinės spalvos pigmentas. Morkos kartu su žaliaalapėmis daržovėmis yra pagrindinis  $\beta$ -karoteno šaltinis maiste. Jo gausu ir abrikosuose, mangoose, moliūguose bei pomidoruose (Khoo ir kt. 2011). Beveik tuose pačiuose maisto produktuose aptinkama ir  $\alpha$ -karoteno, tik gerokai mažesniais kiekiais (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006). Raudonos spalvos vaisiuose ir daržovėse vyrauja likopenas. Pomidorai yra neabejotinai geriausias jo šaltinis. Pomidorų produktuose, pavyzdžiui, kečiupe, likopeno kiekis yra maždaug penkis kartus didesnis nei šviežiuose pomidoruose.



**2 lentelė. Pagrindiniai karotenoidų šaltiniai maiste (O’Neill ir kt. 2001)**

Maisto produktas	Vidutinis karotenoido kiekis (mg/100 g produkto)				
	$\alpha$ -karotenas	$\beta$ -karotenas	liuteinas	zeaksantinas	likopenas
Abrikosai (švieži)	0,037	0,953	0,066	0,031	-
Apelsinai	0,016	0,025	0,092	0,050	-
Arbūzas	-	0,154	0,027	-	3,477
Briuseliniai kopūstai	-	0,324	0,669	-	-
Brokoliai (virti)	-	0,944	1,596	-	-
Burokėliai:					
lapai ir stiebai	-	1,360	1,960	-	-
Didžiosios pupos	-	0,406	0,654	-	-
Greipfrutai:					
rožiniai	-	1,310	-	-	3,362
geltonieji	0,006	0,005	0,008	-	-
Kiaušiniai (trynys)	-	0,029	1,576	-	-
visas	-	0,013	0,620	-	-
Kukurūzai	0,06	0,059	0,522	0,437	-
Mangai (švieži)	-	1,30	-	-	-
Moliūgai (virti)	-	0,49	0,63	-	-
Morkos (šviežios)	2,186	7,975	0,271	-	-
Morkos (virtos)	3,274	9,422	0,252	-	-
Papajos	-	0,059-0,22	0,038	0,021	2,07
Persikai	0,003	0,084	0,060	-	-
Petražolės	-	5,062	8,006	-	-
Pomidorai ir jų produktai:					
švieži	-	0,608	0,077	-	2,718
virti	-	0,658	0,120	-	3,703
konservuoti	-	0,258	0,116	-	5,613
pomidorų padažas	-	0,480	0,110	-	14,57
pomidorų sriuba	-	0,27	0,005	-	13,66
pomidorų sultys	-	0,423	0,030	-	9,675
kečupas	-	5	0,210	-	9,900
Salotos	-	0,890	1,250	-	-
Špinatai	-	4,489	6,265	0,350	-
Žirniai (virti)	-	0,548	1,840	-	-

Dauguma ksantofilų, pavyzdžiui, liuteinas ir zeaksantinas, yra geltonai oranžinės spalvos. Daug jų yra žaliaalapėse daržovėse (Khoo ir kt. 2011). Nemažai šių karotenoidų randama ir kiaušinio trynyje. Todėl makaronai ar kiti grūdiniai produktai, kurių sudėtyje yra kiaušinių, minimi kaip liuteino ir zeaksantino šaltiniai maiste (Humphries ir kt. 2003). Dar vieno geltonai oranžinės spalvos karotenoido  $\beta$ -kriptoksantino daugiausia yra oranžinės spalvos vaisiuose: persikuose, nektarinuose, apelsinuose, kriaušėse, persimonuose. Šiuose vaisiuose esantys karotenoidai unikalūs ir tuo, jog čia aptinkama daug hidroksikarotenoidų ir epoksidų, kurie yra esterinti su riebalų rūgštimis (Khachik ir kt. 2002; Khoo ir kt. 2011).

Dažniausiai su maistu gaunamų ir didžiausią įtaką žmogaus sveikatai turinčių karotenoidų šaltiniai maiste pateikiami **2 lentelėje**.

Kokybinė karotenoidų sudėtis daugelyje vaisių ir daržovių yra gana pastovi (Khachik ir kt. 2002), tačiau karotenoidų kiekį juose gali lemti daugelis veiksnių – auginimo ir laikymo temperatūra, sezoniškumas, maisto paruošimo būdas. Gerai prinokusių vaisiuose ir daržovėse šių junginių kiekis gerokai didesnis. Saulės šviesa bei aukštesnė temperatūra skatina karotenogenezę. Todėl atogrąžų regionuose užaugintuose vaisiuose karotenoidų kiekis didesnis nei šaltesnėmis sąlygomis augusiuose augaluose. Sezoniškumas taip pat reikšmingai veikia minėtų junginių kiekį: pavyzdžiui, pomidorai, auginami šiltnamyje šaltuoju sezonu, turi vos trečdalį karotenoidų kiekio, palyginti su tos pačios rūšies daržovėmis, augintomis vasarą lauke. Daugumos vaisių ir daržovių minkštyme karotenoidų susikaupia mažiau nei žievelėje. Nuėmus ir laikant derlių karotenoidų biosintezė gali tęstis, tačiau būdami nesočiosios struktūros junginiai, jie linkę izomerizuotis bei oksiduotis. Augalų ląstelių struktūra, sauganti karotenoidus nuo minėtų struktūros pokyčių gamtoje, mažina jų biologinį įsisavinimą žmogaus organizme (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006). Sąvoka „biologinis įsisavinimas“ apibūdina suvartoto produkto dalį, kuri patenka į organizmą ir naudojama fiziologinėms reikmėms arba kaupiama kaip organizmo atsargos (Namitha ir kt.

2010). Atlikti tyrimai parodė, jog mechaninis ar terminis maisto apdorojimas suardant ląstelių membranų vientisumą ar maiste esančius karotenoidų ir baltymų kompleksus gali padidinti minėtą įsisavinimą. Taigi, norint padidinti biologinį įsisavinimą nesuardant karotenoidų, svarbu pagerinti maisto ruošimo sąlygas (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006).

Karotenoidai yra lipofiliniai junginiai, todėl maiste esantys lipidai gerina karotenoidų įsisavinimą (Brown ir kt. 2004). Tyrimais (Roodenburg ir kt. 2000; van Het Hof ir kt. 2000; Ribaya-Mercado ir kt. 2002) nustatyta, jog 3–5 g riebalų, gautų su maistu, užtikrina optimalią  $\beta$ -karoteno rezorbciją. Minimalus šiam procesui bei A vitamino pirmtakams virsti A vitaminu reikalingas vieno valgymo metu su maistu gaunamų riebalų kiekis yra 2,4 g (Ribaya-Mercado ir kt. 2004).

Taip pat žinoma, jog maistinės skaidulos slopina karotenoidų rezorbciją, nes pastarosios savo paviršiuje absorbuoja karotenoidus bei tulžies rūgštis ir tai lemia didesnę riebaluose tirpių junginių šalinimą su išmatomis (Maiani ir kt. 2009).

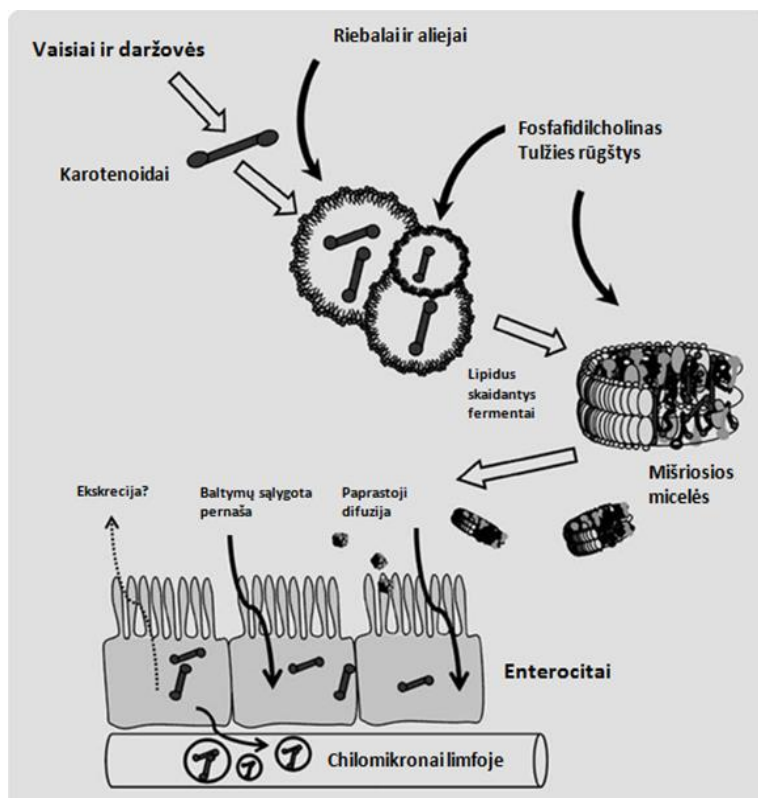
Karotenoidų biologiniam įsisavinimui turi įtakos ne tik anksčiau aptartos maisto savybės, bet ir tokie veiksniai kaip karotenoidų cheminė struktūra, rezorbcijos ypatumai, genetiniai veiksniai ir minėtų ypatybių sąveika. Žinoma, kad karotenoidų lipofiliškumas ir poliškumas veikia karotenoidų patekimą į enterocitus ir kad mišriųjų micelių sudėtiniai komponentai lizofosfolipidai skatina šį procesą (Namitha ir kt. 2010).

Rezorbcija gali būti veikiama tiek sąveikos tarp pačių karotenoidų – didelis vieno iš jų vartojimas gali slopinti kitų įsisavinimą (Maiani ir kt. 2009), tiek tokių fiziologinių veiksnių kaip lytis (Jansen ir kt. 2004), amžius (Maiani ir kt. 1989; Carroll ir kt. 1999), parazitinės žarnyno ligos (dePees ir kt. 1995), mikroelementų stoka (Erdman ir kt. 1993).

Be to, dalis patekusių į enterocitą karotenoidų gali būti išskiriama atgal į žarnyno spindį, dalyvaujant pernašos sistemoms, siejamoms su ksenobiotikų šalinimu (Nagao ir kt. 2011).

## 2.4. Karotenoidų metabolizmas. Karotenoidų apykaitoje dalyvaujantys baltymai ir juos koduojančių genų polimorfizmo vaidmuo

Daugelyje literatūros šaltinių pateikiamas šis apibendrintas karotenoidų apykaitos modelis: virškinamajame trakte suardžius ląstelieną karotenoidai patenka į emulsintus maisto riebalų lašelius, kurie yra veikiami lipolitinių virškinimo (daugiausia kasos lipazės) fermentų; tuomet dvylikapirštėje žarnoje karotenoidai patenka į enterocitus paprastosios difuzijos būdu mišriųjų micelių sudėtyje kartu su fosfolipidų hidrolizės produktais, laisvomis riebalų rūgštimis, monoacilgliceroliais ir tulžies rūgštimis. Vėliau jie įterpiami į chilomikronų sudėtį ir dalyvauja tolesnėje lipoproteinų apykaitoje (**4 pav.**); (Jamison 2003; Nagao 2011; Borel 2012).



**4 pav.** Maisto karotenoidų rezorbcija ir metabolizmas (pagal Nagao 2011)

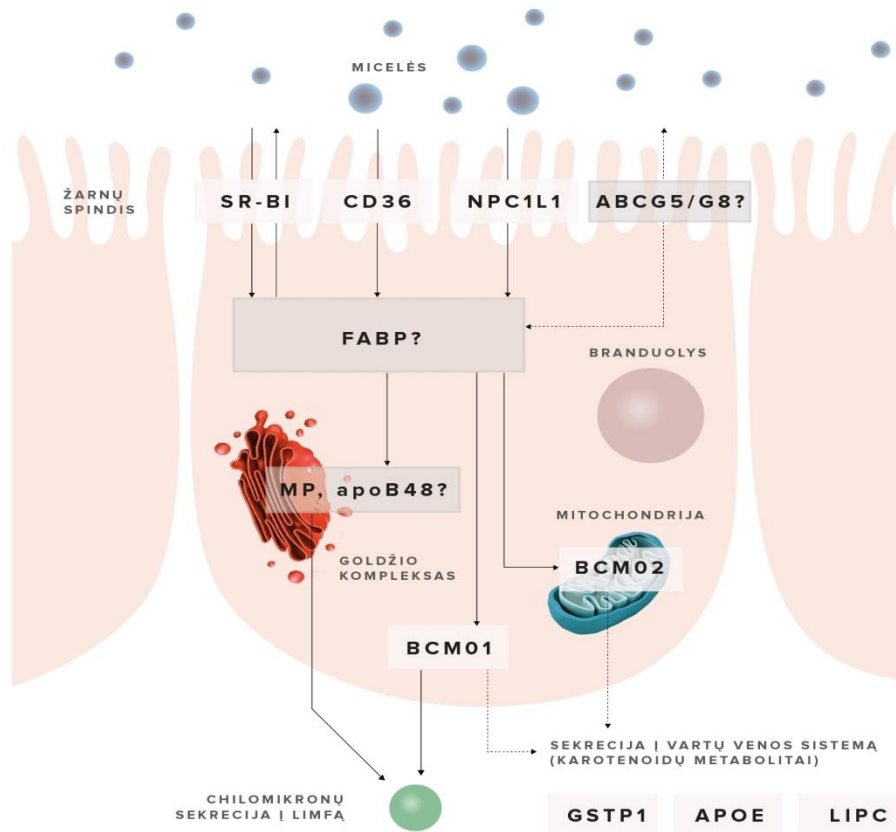
Svarbu pažymėti, jog karotenoidų rezorbcija ir jų koncentracija kraujyje bei audiniuose smarkiai įvairuoja netgi tarp tos pačios rūšies individų. Tai verčia manyti, jog apykaitos procesas yra gerokai sudėtingesnis, nei aprašyta anksčiau.

Tikėtina, jog esterintų karotenoidų hidrolizėje dalyvauja virškinimo fermentai. Nors šiai hipotezei patvirtinti nėra pakankamų įrodymų *in vivo*, manoma, jog realiausi kandidatai galėtų būti žarnyno bei kasos lipazės arba cholesterolesterazė (Borel 2012). Taip pat negalima atmesti galimybės, jog rezorbuojami neskaidyti karotenoidų esteriai, nes po liuteino esterių papildų vartojimo žmogaus kraujyje buvo aptikta liuteino esterių (Granado ir kt. 1998).

Gali būti, jog maisto karotenoidų rezorbcija vyksta ne vien pasyvios difuzijos būdu (šis būdas labiausiai tikėtinas esant didelėms farmakologinėms dozėms), tačiau ir dalyvaujant apikalinėje enterocitų membranoje esantiems baltymams. Galiausiai – manoma, jog baltymai dalyvauja ir viduląstelinėje karotenoidų pernašoje (Bhosale ir kt. 2007; Yonekura ir kt. 2007; Borel 2012).

Šiuo metu yra nustatyta šių baltymų reikšmė karotenoidų apykaitai: karotenoidų skaidyme dalyvauja  $\beta,\beta$ -karoteno-15,15'-monooksigenazė (BCMO1) ir  $\beta,\beta$ -karoteno-9,10'-dioksigenazė (BCDO2), patekimui į ląsteles svarbūs B klasės I tipo receptoriai rijkai (angl. *scavenger*) (SR-BI), 36 leukocitų diferenciacijos antigenas (angl. *cluster of differentiation*) (CD36) ir Nimano–Piko C1-L1 tipo (NPC1L1) baltymai bei žmogaus akies tinklainės ksantofilų apykaitoje dalyvaujantys glutationo S-transferazė Pi 1 (GSTP1) ir žmogaus akies tinklainės liuteiną prijungiantis baltymas (HR-LBP). Taip pat tikėtina, jog karotenoidų apykaitoje dalyvauja ir tokie baltymai kaip pernašos baltymų šeimos (angl. *ATP-binding cassette*) 5 baltymas (ABCG5) ir sočiasias riebalų rūgštis nešantis baltymas (FABP), tačiau reikia detalesnių tyrimų, kad tai būtų galima patvirtinti.

Pagrindiniai baltymai kandidatai, kurie gali būti susiję su karotenoidų pernaša per apikalinę enterocito membraną ir apykaitą ląstelės viduje, apibendrinti **5 paveiksle**.



**5 pav.** Baltymai, galbūt dalyvaujantys karotenoidų pernašoje enterocituose (pagal Borel 2012)

Karotenoidus iš mišriųjų micelių paima apikalinėje enterocito membranoje esančios pernašos sistemos (SR-BI, CD36 ir NPC1L1). Dalis karotenoidų gali būti pašalinami atgal į žarnų spindį dalyvaujant SR-BI ir galbūt ABCG5/G8 pernašos sistemų baltymams. Patekę į enterocitą provitamino A aktyvumu pasižymintys karotenoidai ( $\alpha$ - ir  $\beta$ -karotenai bei  $\beta$ -kriptoksantinas) yra suskaidomi į retinolį veikiant BCMO1. Manoma, jog likę karotenoidai, neturintys provitamino A aktyvumo (likopenas, liuteinas, zeaksantinas), nunešami į mitochondrijas, kur, veikiami fermento BCMO2, skaidomi į apokarotenalius. Tikėtina, jog viduląstelinėje karotenoidų pernašoje dalyvauja ir daugiau baltymų, pvz., FABP, tačiau jie nėra tiksliai identifikuoti. Nemetabolizuoti karotenoidai ir retinilo esteriai, susidarę veikiant BCMO1 ir kitiems A vitamino apykaitoje dalyvaujantiems fermentams, yra išsiskiriami į limfą chilomikronų sudėtyje (Borel 2012).

Genų variantai, koduojantys išvardytus baltymus, gali paveikti jų raišką ar koduojamų produktų aktyvumą, o dėl to ir karotenoidų metabolizmą bei kiekį organizme (Borel 2012; Da Costa ir kt. 2012; Moran ir kt. 2013). Viso genomo

(GWAS) (Ferrucci ir kt. 2009) bei keleto kitų asociacijos (Bhosale ir kt. 2009, Borel ir kt. 2007, 2009, 2010; Herbeth ir kt. 2007; Leung ir kt. 2009; Ortega ir kt. 2005; Tian ir kt. 2009; Vage ir kt. 2010) tyrimų rezultatai parodė, jog asmenims, turintiems skirtingus pavienius vieno nukleotido polimorfizmus ar jų derinius (Borel ir kt. 2014, 2015), kurie yra minėtuose genuose ar greta jų, būdinga skirtinga kraujo ir (ar) audinių karotenoidų koncentracija (**3 lent.**).

**3 lentelė.** Genomo žymenys, genų kandidatų asociacijų tyrimų duomenimis asocijuoti su karotenoidų koncentracija kraujyje

Genai	VNP	Genotipai ar aleliai, asocijuoti su sumažėjusia / padidėjusia karotenoidų koncentracija kraujyje	Karotenoidai, kurių koncentracijos pokyčiai kraujyje sietini su genomo žymenimis	Literatūros šaltinis
<i>ABCG5</i>	rs192910356	G alelis	liuteinas	Herron ir kt. 2006
<i>apo B</i>	rs934197	C alelis	likopenas β-karotenas	Borel ir kt. 2007
<i>apo A-IV</i>	rs675	TT	likopenas	
<i>apoE</i>	rs429358 rs7412	E3/2 (vs E3/3) E3/2 (vs E3/3)	likopenas α-karotenas	Ortega ir kt. 2005
<i>BCMO1</i>	rs6564851 rs12934922 rs7501331 rs7501331	G alelis 379A TT CT	likopenas, liuteinas zeaksantinas β-karotenas liuteinas	Ferrucci ir kt. 2009; Leung ir kt. 2009; Borel ir kt. 2010
<i>CD36</i>	rs1761667 rs13230419	A alelis CC	liuteinas liuteinas	Borel ir kt. 2010
<i>FABP2</i>	rs1799883	GG	likopenas	Borel ir kt. 2009
<i>LPL</i>	rs328	X447/X447 S447/S447	β-karotenas α-karotenas β-kriptoksantinas	Borel ir kt. 2007
<i>SR-BI</i>	rs11057841	T alelis	liuteinas	McKay ir kt. 2013

Kraujyje karotenoidai pernešami lipoproteinų sudėtyje. Karotenoidų kiekis įvairiose lipoproteinų frakcijose skiriasi, pavyzdžiui, labai mažo tankio lipoproteinuose (LMTL) jų randama 14 %, mažo tankio lipoproteinuose (MTL) – 55 % ir didelio tankio lipoproteinuose (DTL) – 31 %.  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karotenai, likopenas vyrauja MTL, o ksantofilai dažniau dominuoja DTL sudėtyje (Clevidence ir kt. 1993; Wang ir kt. 2007; Giordano ir kt. 2012).

Kadangi karotenoidai kraujotakos sistemoje pernešami lipoproteinų sudėtyje, tad karotenoidų koncentracijų skirtumui skirtingų asmenų organizme gali turėti įtakos genų, koduojančių apolipoproteinus A-IV/B/E bei lipoproteinlipazes, įvairovė (Borel ir kt. 2007).

Apie maisto karotenoidų metabolitus, susidarančius žmogaus audiniuose, žinoma nedaug. Plazmoje randami du liuteino dehidrinimo produktai: 3-hidroksi-2',3'-didehidro- $\beta,\epsilon$ -karotenas ir 3-hidroksi-3',4'-didehidro- $\beta$ ,  $\gamma$ -karotenas, kurių maiste nėra. Šie metabolitai veikiausiai susidaro nefermentiniu būdu skrandyje veikiant rūgštims (Khachik ir kt. 2002). Akies audiniuose randamas 3R,3'R-*mezo*-zeaksantinas, susidaręs izomerizuojantis su maistu gautam liuteinui. Jo nerandama kraujo serume ir kepenyse (Roberts ir kt. 2009). Likopeno apykaita žmogaus organizme vyksta susidarant jo epoksidams, kurių struktūrai persitvarkant gaunami I ir II 2,6-ciklolikopen-1,5-dioliai, randami kraujo serume. Atlikti tyrimai rodo, jog viena iš karotenoiduose esančių hidroksilo grupių gali būti oksiduojama į karbonilo grupę, susidarant, pavyzdžiui, 4,4'-dimetoksi- $\beta$ -karotenui. Tačiau šių metabolitų sintezės reakcijas katalizuojantys fermentai nėra žinomi; taip pat nėra iki galo aiškios susidariusių metabolitų biologinės funkcijos (Khachik ir kt. 2002).

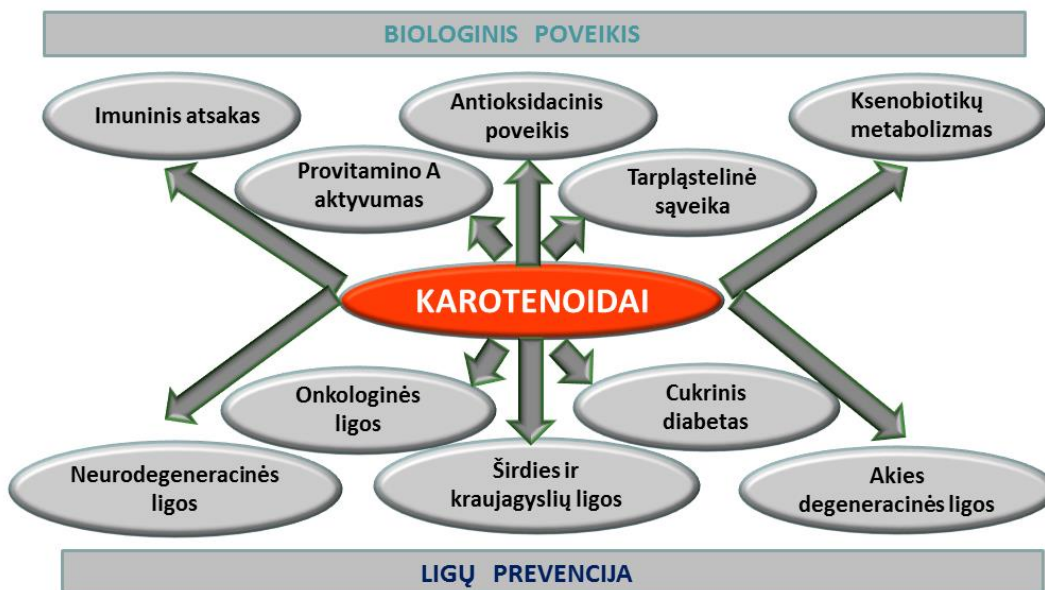
Detalus keleto žmogaus audinių ir organų – kepenų, plaučių, krūties ir gimdos kaklelio – ekstraktų tyrimas parodė, kad juose vyrauja tie patys karotenoidai, kaip ir kraujyje (Khachik ir kt. 2002).  $\beta$ -karotenas kaupiamas riebaliniame audinyje ir odoje (Braun ir kt. 2007), likopenas – sėklidėse, antinksčiuose, kepenyse, riebaliniame audinyje, prostatoje, inkstuose, kiaušidėse, tinklainės pigmentiniame epitelyje (Karppi ir kt. 2009), liuteinas ir zeaksantinas –



akyje (tinklainėje, lęšiuke), odoje, gimdos kaklelyje, smegenyse, krūties ir riebaliniame audiniuose (Cardinault ir kt. 2003). Plaučių audinyje aptinkamos palyginti didelės liuteino,  $\beta$ -kriptoksantino, likopeno ir  $\beta$ -karoteno koncentracijos (Khachik ir kt. 2002).

## 2.5. Karotenoidų biologinės funkcijos ir svarba ligų prevencijai

Augaluose karotenoidai svarbūs fotosintezei. Jie aptinkami fotosintezėje dalyvaujančiose augalų struktūrose, kur atlieka dvejopą funkciją: sugeria to bangos ilgio šviesą, kurios chlorofilas neabsorbuoja, bei apsaugo chlorofilą, kad nesuirėtų (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006). Žmogaus organizme tai vieni efektyviausių egzogeninių lipofilinių antioksidantų, svarbūs daugelio lėtinių neinfekcinių ligų prevencijai.  $\beta$ -karotenas ir likopenas siejami su mažesne kai kurių lokalizacijų vėžio, o liuteinas ir zeaksantinas – su amžiumi susijusių degeneracinių akies ligų rizika (Rao ir kt. 2007).



**6 pav.** Karotenoidų biologinis poveikis ir svarba lėtinių ligų prevencijai (pagal Rao ir kt. 2007)

Pavienių karotenoidų funkcijos ir biologinis poveikis apibendrinti **4 lentelėje**. Šių junginių nauda dažniausiai siejama su jų, kaip vitamino A pirmtakų, funkcijomis. Tačiau karotenoidų vaidmuo įvairių ligų etiopatogenezeje apima gerokai įvairesnius biologinio veikimo mechanizmus (**6 pav.**).

**4 lentelė.** Pagrindinės karotenoidų funkcijos ir jų biologinis poveikis (Tanaka ir kt. 2012)

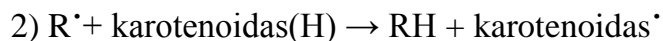
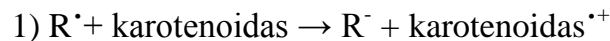
<b>Karotenoidas</b>	<b>Pagrindinės funkcijos</b>	<b>Biologinis poveikis</b>
$\alpha$ -karotenas	Vitamino A pirmtakas; antioksidantas	Stiprina imuninę sistemą; gerina tarpląstelinę sąveiką; mažina kai kurių lokalizacijų vėžio riziką
$\beta$ -karotenas	Vitamino A pirmtakas; antioksidantas	Stiprina imuninę sistemą; mažina kai kurių lokalizacijų vėžio, širdies ir kraujagyslių ligų riziką
Likopenas	Antioksidantas	Mažina kai kurių lokalizacijų vėžio, širdies ir kraujagyslių ligų, diabeto, osteoporozės riziką
$\beta$ -kriptoksantinas	Vitamino A pirmtakas antioksidantas	Uždegimą slopinantis poveikis; mažina kai kurių lokalizacijų vėžio, širdies ir kraujagyslių ligų riziką; stiprina imuninę sistemą
Liuteinas / zeaksantinas	Jautrumą šviesai mažinantys pigmentai; antioksidantai; absorbuoja mėlynos spalvos šviesos spindulius	Mažina su amžiumi susijusių degeneracinių akių ligų bei kai kurių lokalizacijų vėžio, širdies ir kraujagyslių ligų riziką
Kantaksantinas	Antioksidantas	Stiprina imuninę sistemą; mažina kai kurių lokalizacijų vėžio riziką

## 2.6. Antioksidacinis karotenoidų aktyvumas

Karotenoidai yra vieni iš geriausiai šalinančių vienetinio deguonies ir kitų reaktyviojo deguonies atmainų kenksmingumą. Jie gali sąveikauti su visomis biologinėse sistemose aptinkamomis laisvųjų radikalų formomis – vandenilio peroksidu, vienetiniu deguonimi, azoto oksidais, hidroksilo radikalais ir kt. (Rao ir kt. 2007).

Polieninės grandinės ilgis, konjuguotų ir izoliuotų dvigubųjų jungčių skaičius, aciklinė struktūra, deguonies pakaitų nebuvimas – tai svarbūs struktūriniai ypatumai, lemiantys karotenoidų antioksidacines savybes. Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymi karotenoidai, turintys devynias ir daugiau konjuguotas dvigubąsias jungtis. Tačiau nors tiek  $\beta$ -karotenas, tiek likopenas turi po vienodą konjuguotų dvigubųjų jungčių skaičių (vienuolika konjuguotų ir dvi izoliuotas), dėl aciklinės struktūros likopenas šalina laisvuosius radikalus efektyviausiai iš visų gamtinių karotenoidų (Namitha ir kt. 2010).

Dažniausiai antioksidacinis veikimas aiškinamas elektronų (1) arba vandenilio atomų (2) pernaša tarp karotenoidų ir laisvųjų radikalų (R):



Tokiose reakcijose laisvieji radikalai paima elektroną arba vandenilio atomą iš karotenoido, pastarajam virstant nesuporintą elektroną turinčiu karotenoido radikalais. Tokiu būdu reaktyvus deguonies radikalas paverčiamas į nekenksmingą neradikalinę formą (Rao ir kt. 2007). Karotenoidų radikalai vėl tampa aktyvūs po reakcijos su tokoferoliu ir askorbo rūgštimi (Kučinskienė 2001).

## 2.7. Galimas prooksidacinis $\beta$ -karoteno veikimas

Atlikta daug epidemiologinių stebimųjų tyrimų, kai buvo vertinama su maistu gaunamo natūralios kilmės  $\beta$ -karoteno svarba, ir jie parodė teigiamą šio karotenoido poveikį mažinant navikinių bei širdies ir kraujagyslių sistemos ligų riziką. Tačiau dviejų didelių intervencinių tyrimų (ATBC tyrimo grupė 1994;

Omen ir kt. 1996) duomenimis, didelėmis dozėmis vartojamas sintetinis  $\beta$ -karotenas gali didinti mirtingumą nuo širdies ir kraujagyslių ligų bei plaučių vėžio riziką rūkaliams bei su asbestu dirbantiems asmenims. Ši sąsaja nenustatyta nerūkančių ar anksčiau rūkiusių asmenų grupėje (Braun ir kt. 2007). Taip pat paaiškėjo, jog didelės  $\beta$ -karoteno dozės gali lemti DNR pažaidas (Azqueta ir kt. 2012). Tai verčia manyti, jog tam tikromis aplinkybėmis  $\beta$ -karotenas gali veikti kaip prooksidantas.

Yra keletas hipotezių, aiškinančių minėtą reiškinį. Įprastą su maistu gaunamo  $\beta$ -karoteno kiekį viršijančios sintetinių papildų dozės gali slopinti kitų antioksidantų rezorbciją. Neatmetama ir tai, jog didelės rizikos grupės tiriamųjų organizme karcinogenezė galėjo būti prasidėjusi iki intervencinio tyrimo pradžios. Taip pat tikėtina, jog šių asmenų kraujyje  $\beta$ -karotenas gali būti nestabilus dėl kitų antioksidantų, pavyzdžiui, C vitamino, stokos. Naviko raidą gali skatinti ir dėl sąveikos su cigaretėse esančiais komponentais susidarę oksiduoti metabolitai. Minėtam prooksidaciniam veikimui pasireikšti turi įtakos didelis plaučių įsotinimas deguonimi (Brill ir kt. 2009).

Dėl galimo prooksidacinio veikimo sintetinio  $\beta$ -karoteno papildų vartojimas farmakologinėmis dozėmis širdies ir kraujagyslių ligų bei plaučių vėžio prevencijai, ypač rūkaliams, nerekomenduojamas. Tačiau nė viename atliktų tyrimų nerasta natūralios kilmės karotenoidų prooksidacinio veikimo biologinėse sistemose įrodymų. Todėl minėtų ligų prevencijai skatinama vartoti karotenoidų turinčius vaisius ir daržoves (Rodriguez-Amaya ir kt. 2006).

## **2.8. Antiaterogeninis karotenoidų veikimas**

Pastaraisiais dešimtmečiais susidomėjimas antiaterogeniniu karotenoidų aktyvumu nuolat didėja. Atlikta daug tyrimų, kuriais siekta nustatyti, ar karotenoidai veikia ankstyvose aterosklerozės stadijose, kai nustatoma endotelio disfunkcija (vertinant bendrosios miego arterijos sienos vidinio ir vidurinio

sluoksnių storį), ar vėlesnėse ligos stadijose, kurioms būdinga klinikinė išraiška, pavyzdžiui, miokardo infarktas (Giordano ir kt. 2012).

Karotenoidų reikšmė endotelio funkcijai tirta keliuose darbuose (Dwyer ir kt. 2001; Rissanen ir kt. 2000, 2003; Zou ir kt. 2011), kuriuose nustatyta, jog mažesnė šių junginių koncentracija kraujyje susijusi su didesniu bendrosios miego arterijos sienos vidinio ir vidurinio sluoksnių storium. Labiausiai šis vaidmuo priskirtinas likopenui (Rissanen ir kt. 2000, 2003) ir liuteinui (Dwyer ir kt. 2001; Zou ir kt. 2011), tačiau yra tyrimų, rodančių ir  $\beta$ -karoteno svarbą slopinant ankstyvos besimptomės aterosklerozės raidą (Riccioni ir kt. 2010, 2012).

Manoma, jog karotenoidai gali didinti aterosklerozinės plokštelės stabilumą bei mažinti trombozės riziką (Giordano ir kt. 2012). Stebimieji tyrimai (Hak ir kt. 2003; Buijsse ir kt. 2008) parodė, kad  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karotenai mažina mirtingumą nuo cerebrovaskulinės (insulto bei kitų smegenų kraujotakos ligų) bei širdies ir kraujagyslių sistemos ligų (detaliai svarbiausias karotenoidų antiaterogeninio veikimo mechanizmą patvirtinančias kliniškes studijas apžvelgsime šio darbo 2.9 skirsnyje).

Įrodyta, jog likopeno papildų vartojimas reikšmingai sumažina lemiamą vaidmenį aterosklerozės patogenezėje atliekančių oksiduotų MTL koncentraciją kraujo plazmoje (Sesso ir kt. 2005). MTL atsparumas oksidacijai priklauso nuo juose esančių antioksidantų (Kučinskienė 2001). Lietuvoje šios srities tyrimų atlikta nedaug. Vienas reikšmingiausių – bendras Lietuvos ir Švedijos mokslinis projektas „LiVicordia“, kurio rezultatai parodė, jog Vilniaus vyrų kraujo plazmos MTL oksidavosi daug greičiau nei Linčopingo vyrų (Kristenson ir kt. 1997).

Tačiau antiaterogeninis karotenoidų, ypač likopeno, poveikis neapsiriboja vien antioksidaciniu jų aktyvumu. Ląstelių kultūrų tyrimai atskleidė ir kitus galimus karotenoidų biologinio veikimo mechanizmus įvairiuose aterogenezės etapuose:

- 1) Cholesterolio metabolizmo reguliavimas. Nustatyta, kad likopenas ir  $\beta$ -karotenas gali slopinti fermento *3-hidroksi-3-metilgliutaril-kofermento*

A (*HMG-KoA*) reduktazės raišką, kartu mažindamas cholesterolio kiekį ląstelėse (Sesso ir kt. 2005);

- 2) Įrodyta, jog likopenas ir  $\beta$ -kriptoksantinas priklausomai nuo dozės skatino baltymų, dalyvaujančių šalinant cholesterolį iš makrofagų – ABCA1 ir kaveolino-1 (CAV-1) raišką makrofaguose (Matsumoto ir kt. 2007);
- 3) Likopenas slopina oksisterolių nulemtą oksidacinį DNR pažeidimą bei uždegimą skatinančių citokinų gamybą tiek baltymų sintezės, tiek iRNR lygmeniu (Palozza ir kt. 2010);
- 4) Likopenas gali sumažinti putliųjų ląstelių susidarymą, slopindamas lipidų sintezę šiose ląstelėse ir reguliuodamas receptorių rijikų raišką (Giordano ir kt. 2012);
- 5) Likopenas mažina adhezijos molekulių raišką ir tokiu būdu gali slopinti monocitų adheziją endotelio ląstelių paviršiuje (Giordano ir kt. 2012);
- 6) Daugėja įrodymų, kad likopenas gali reguliuoti redokso būklę ne tik tiesiogiai reaguodamas su reaktyviojo deguonies atmainomis, bet ir slopindamas RDD gaminančių fermentų, pavyzdžiui, *NADPH oksidazės*, *ciklooksigenazės-2* (COX-2) ir *5-lipooksigenazės* (5-LO), genų raišką (Giordano ir kt. 2012);
- 7) *In vitro* tyrimai rodo, kad likopenas, moduliudamas *proteinkinazės C* (PKC) aktyvumą bei tiesiogiai veikdamas ląstelių proliferaciją ir apoptozę kontroliuojančių genų raišką, gali slopinti lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją (Lo ir kt. 2007).

Dar vienas karotenoidams būdingas biologinis poveikis, svarbus slopinant aterosklerozės progresavimą, – uždegimą slopinantis jų veikimas. Karotenoidai uždegimą gali slopinti įvairiais būdais: mažindami fermento *lipooksigenazės* (LO) aktyvumą (Giordano ir kt. 2012), moduliudami transkripcijos veiksnius, pavyzdžiui, NF-kB, kuris dalyvauja reguliuojant Il-6 ir kitų prouždegiminių citokinų sintezę (Armoza ir kt. 2013; Semba ir kt. 2007), slopindami

lipopolisacharidų sukeltą azoto oksido bei Il-6 susidarymą ląstelių kultūrose (Feng ir kt. 2010).

Kai kurie karotenoidai gali slopinti matrikso metaloproteinazės 9 (MMP-9), kurios pagausėjimas siejamas su padidėjusia aterosklerozės rizika, genų raišką ir aktyvumą įvairios kilmės ląstelių kultūrose (Guruvayoorappan ir kt. 2007; Minami ir kt. 2009; Terao ir kt. 2011); taip pat nustatytas ryšys tarp mažo provitamino A savybėmis pasižyminčių karotenoidų kiekio ir padidėjusios MMP-9 koncentracijos kraujo plazmoje (Rydeń ir kt. 2012).

Atlikti tyrimai (Agarwal ir kt. 2012; Johnstone ir kt. 2012; Meensa ir kt. 2012) nustatė dar vieną galimą karotenoidų veikimo mechanizmą reguliuojant baltymų koneksinų kiekį. Šiuo metu tiriama, kaip būtent karotenoidai gali paveikti šiuos baltymus koduojančių genų raišką ir kokią įtaką jie turi aterosklerozės raidai.

## **2.9. Svarbiausios karotenoidų antiaterogeninio veikimo mechanizmą patvirtinančios klinikinės studijos**

Karotenoidų vaidmuo širdies ir kraujagyslių ligų etiopatogenezeje nagrinėtas tiek epidemiologiniuose tiek klinikiniuose tyrimuose – didelės apimties ir kitų reikšmingiausių darbų rezultatai apžvelgti **5 lentelėje**.

Atliekant EURAMIC tyrimą (Kohlmeier ir kt. 2000), kuriuo ieškota ryšio tarp antioksidantų kiekio organizme ir ūminio miokardo infarkto, iš dešimties Europos valstybių atrinkti tiriamieji asmenys pagal likopeno koncentraciją riebaliniame audinyje suskirstyti į penkias grupes; asmenims, kurių likopeno koncentraciją riebalinio audinio bioplate buvo didžiausia, miokardo infarkto rizika buvo 48 % mažesnė negu grupės, kurioje ši koncentracija buvo mažiausia. Pažymėtina, jog toks likopeno apsauginis efektas labiausiai būdingas nerūkantiems asmenims.

**5 lentelė.** Tyrimų, nagrinėjusių karotenoidų svarbą širdies ir kraujagyslių ligų etiopatogenezeje, apžvalga

Tyrimo pavadinimas ( autoriai, publikavimo metai)	Epidemiologinio tyrimo tipas	Tiriamoji grupė		Rezultatai
		lytis (V – vyrai, M – moterys)	n (tiriamųjų asmenų skaičius)	
Vašingtono apygardos studija (Street ir kt. 1994)	Lizdinis atvejo ir kontrolės ir 14 metų stebėjimo	V, M	25802	Su maistu gaunamo $\beta$ -karoteno ir likopeno kiekis buvo atvirkščiai susijęs su insulto rizika, o liuteino ir zeaksantino – su subarachnoidinės hemoragijos rizika. Tarp asmenų, kuriems diagnozuotas miokardo infarktas, ir sveikų kontrolinės grupės asmenų serumo likopeno koncentracijos statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta
Howard ir kt. (1996)	Atvejo ir kontrolės	V M	1442	MI rizika mažėja didėjant $\alpha$ - ir $\beta$ -karoteno ir kriptoksantino suvartojimui
EURAMIC (Kohlmeier ir kt. 1997)	Atvejo ir kontrolės	V	1379	Asmenų, patyrusių miokardo infarktą, riebalinio audinio likopeno koncentracija mažesnė negu sveikųjų
ARIC (Iribarren ir kt. 1997)	Lizdinis atvejo ir kontrolės	V, M	462	Nenustatyta statistiškai reikšmingo skirtumo tarp tiriamosios ir kontrolinės grupės asmenų kraujo serumo likopeno koncentracijos; bendrosios miego arterijos sienelės sustorėjimas buvo didesnis grupėje asmenų, kurių $\beta$ -kriptoksantino, liuteino, zeaksantino koncentracijos buvo mažesnės
Livicordia (Kristenson ir kt. 1997)	Skerspjūvio	V	210	Mažesnė plazmos likopeno koncentracija susijusi su padidėjusia širdies ir kraujagyslių ligų rizika bei mirtingumu
Hirvonen ir kt. (2000)	6,9 metų stebimasis tyrimas	V	26 593	Nustatyta atvirkštinė koreliacija tarp su maistu gaunamo natūralios kilmės $\beta$ -karoteno ir insulto dažnio rūkalių vyrų grupėje
Roterdamo (Klipstein–	Atvejo ir kontrolės	V, M	216	Nustatytas atvirkštinis ryšys tarp serumo likopeno koncentracijos ir aterosklerozės;



Grobusch ir kt. (2000)				šis ryšys itin akivaizdus rūkantiems ar anksčiau rūkiusiems asmenims
ASAP (Rissasen ir kt. 2000)	Skerspjūvio	V, M	520	Mažesnė plazmos likopeno koncentracija susijusi su bendrosios miego arterijos sienos vidinio ir viduriniojo sluoksnio sustorėjimu
Brunecko (D'Odorico ir kt., 2000)	Skerspjūvio ir 5 metų stebimasis	V, M	392	Statistiškai reikšmingo ryšio tarp likopeno koncentracijos ir aterosklerozės rizikos nerasta
Kuopio IŠL rizikos veiksnių studija (Rissasen ir kt. 2001)	Stebimasis	V, M	725	Maža likopeno koncentracija serume yra statistiškai reikšmingai susijusi su bendrosios miego arterijos sienos vidinio ir vidurinio sluoksnių sustorėjimu
Sesso ir kt. (2004)	Stebimasis	M	28 345	Mažesnis likopeno kiekis siejamas su didesne ŠKL rizika
PHS (Sesso ir kt. 2005)	Prospektyvusis atvejo ir kontrolės	V	998	Statistiškai reikšmingo ryšio tarp likopeno koncentracijos bei širdies ir kraujagyslių ligų rizikos nerasta
Ito ir kt. (2006)	11,9 metų stebimasis tyrimas	V, M	3061	Didesnis serumo karotenoidų kiekis susijęs su mažesne KŠL rizika, ypač niekada nerūkiusių vyrų grupėje
Buijsse ir kt. (2008)	15 metų stebimasis tyrimas	V	1266	Didesnis su maistu suvartojamas $\alpha$ -karoteno ir $\beta$ -karoteno kiekis yra susijęs su mažesne mirtingumo nuo ŠKL rizika
NHANES III (Li ir kt. 2011)	Stebimasis	V, M	15631	Nustatytas atvirkštinis ryšys tarp serumo $\alpha$ -karoteno kiekio ir mirties nuo ŠKL rizikos
Karppi ir kt. (2012)	15,9 metų stebimasis tyrimas	V	1031	Mažesnė serumo $\beta$ -karoteno koncentracija didina ŠKL, staigios mirties dėl kardiologinių priežasčių ir bendro mirtingumo riziką
Myung ir kt. (2013)	Metanalizė: 2240 straipsnių, 50 randomizuotų kontroliuojamų tyrimų ir 294 478 dalyviai			Nenustatyta teigiamo papildų poveikio ŠKL prevencijai
Karppi ir kt. (2013)	17,8 metų stebėjimo tyrimas	V	1031	Mažas serumo $\beta$ -karoteno kiekis susijęs su 3 kartus didesne širdies nepakankamumo rizika

Atvejo ir kontrolės tyrimas (Street ir kt., 1994 m.) ryšio tarp likopeno koncentracijos serume ir miokardo infarkto rizikos nenustatė, tačiau jo duomenys patvirtino teigiamą  $\beta$ -karoteno poveikį mažinant ŠKL riziką: nustatyta statistiškai reikšminga atvirkštinė koreliacija tarp mažesnės  $\beta$ -karoteno koncentracijos ir pakartotinio MI dažnio. Skerspūvio tyrimas (Kristenson ir kt. 1997), kuriuo lyginti Lietuvos ir Švedijos penkiasdešimtmečiai vyrai, parodė, jog mažesnė plazmos likopeno ir  $\beta$ -karoteno koncentracija statistiškai reikšmingai susijusi su padidėjusiu mirtingumu nuo širdies ir kraujagyslių ligų. ARIC tyrimui (Iribarren ir kt. 1997) sudaryta pagal amžių, lytį, rasę ir regioną vienoda atvejo ir kontrolės 231 pora, siekiant nustatyti ryšį tarp serumo karotenoidų koncentracijos ir bendrosios miego arterijos sienelės sustorėjimo: pastarasis buvo didesnis asmenims, kurių  $\beta$ -kriptoksantino, liuteino, zeaksantino koncentracijos buvo mažesnės. Roterdamo studijos (Klipstein-Grobusch ir kt. 2000) duomenimis, likopenas yra vienintelis karotenoidas, kurio didesnė koncentracija yra susijusi su sumažėjusia aortos aterosklerozės rizika; šis ryšys itin stiprus rūkantiems ar anksčiau rūkiusiems asmenims. Suomijoje atliktu ASAP (Rissanen ir kt. 2000) tyrimu įrodyta, kad vyrų (bet ne moterų) tiriamosios grupės mažesnė plazmos likopeno koncentracija yra statistiškai reikšmingai susijusi su ankstyva ateroskleroze, pasireiškiančia bendrosios miego arterijos sienos sustorėjimu. Skirtingą likopeno efektą vyrams ir moterims galimai lėmė dvi priežastys: 1) geresnė moterų mityba ir 2) efektyvesnė moterų endogeninė antioksidacinė sistema. Statistiškai reikšmingas ryšys tarp mažos likopeno koncentracijos serume ir bendrosios miego arterijos sienos vidinio ir vidurinio sluoksnių sustorėjimo patvirtina ir Kuopio IŠL rizikos veiksnių studija (Rissanen ir kt. 2001, 2003). Serume likopeno koncentracijos padidėjimas kiekvienu 10 nmol/l sumažina ūmių širdies ir kraujagyslių ligų riziką 4 %. PHS – prospektyvusis lizdinis atvejo ir kontrolės tyrimas, kuriame dalyvavo 499 vyresnio amžiaus (69 metų) vyrai, kurie sirgo įvairiomis širdies ir kraujagyslių ligomis, ir 499 sveiki kontrolinės grupės asmenys. Statistiškai reikšmingo ryšio tarp likopeno

koncentracijos bei širdies ir kraujagyslių ligų rizikos tokio amžiaus vyrams nenustatyta.

Prieštaringi rezultatai gauti vertinant sintetinių  $\beta$ -karoteno papildų suvartojimo poveikį: jų rezultatai, apžvelgti metaanalizėje, neparodė jokio teigiamo papildų poveikio ŠKL prevencijai. Negana to, didesnis  $\beta$ -karoteno vartojimas netgi siejamas su didesniu kardiovaskulinio mirtingumo dažniu (Myung ir kt. 2013). Kita vertus, didelio masto tyrimas, kuriame 26 593 rūkančių vyrų buvo stebimi 6,1 metų, nustatė atvirkštinę koreliaciją tarp su maistu gaunamo natūralios kilmės  $\beta$ -karoteno ir insulto dažnio (Hirvonen ir kt. 2000). Vertinant kraujo  $\beta$ -karoteno svarbą ŠKL raidai, paminėtinas ir švedų tyrėjų darbas: vyrų grupės, kurioje nustatytas mažiausias  $\beta$ -karoteno kiekis serume, ŠKL sukeltos mirties rizika buvo du kartus didesnė negu grupės asmenų, kurių serumo  $\beta$ -karoteno koncentracija buvo didžiausia.

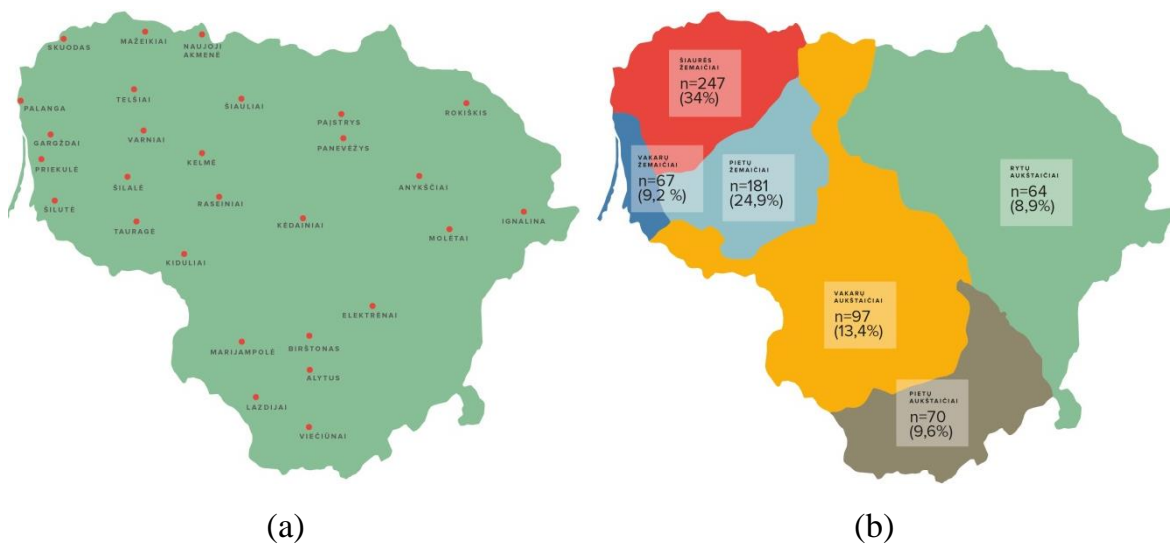
Remiantis literatūros šaltinių duomenimis, galima teigti, jog karotenoidų svarba žmogaus sveikatai neabejotina. Itin mažas tyrimų, nagrinėjusių šių junginių kiekius lietuvių populiacijoje, ir ribotos žinios apie jų metabolizmą ir jį lemiančius veiksnius bei biologinį karotenoidų poveikį *in vivo*, – pagrindinės priežastys paskatinusios atlikti šį mokslinį darbą.

### 3. TYRIMO METODIKA

#### 3.1. Tyrimo imtis

Disertacijos tyrimai yra atlikti kaip dalis 2011–2015 metais VU MF vykdyto Visuotinės dotacijos priemonės Europos socialinio fondo ir Lietuvos Respublikos bendrojo finansavimo lėšomis finansuoto projekto „Lietuvos populiacijos genetinė įvairovė ir sandaros kitimai, susiję su evoliucija ir dažniausiai paplitusiomis ligomis“ (akronimas LITGEN; vadovas prof. habil. dr. V. Kučinskas). Projektui vykdyti buvo gautas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 158200-05-329-79 (2011 m. gegužės 3 d.) (2 priedas). Visi tyrime dalyvaujantys asmenys pasirašė informuoto asmens sutikimo formą.

Siekiant sudaryti reprezentatyvią tyrimo imtį, atsižvelgta į lietuvių populiacijos struktūrą pagal etnolingvistines grupes (Jakaitienė ir kt. 2013).

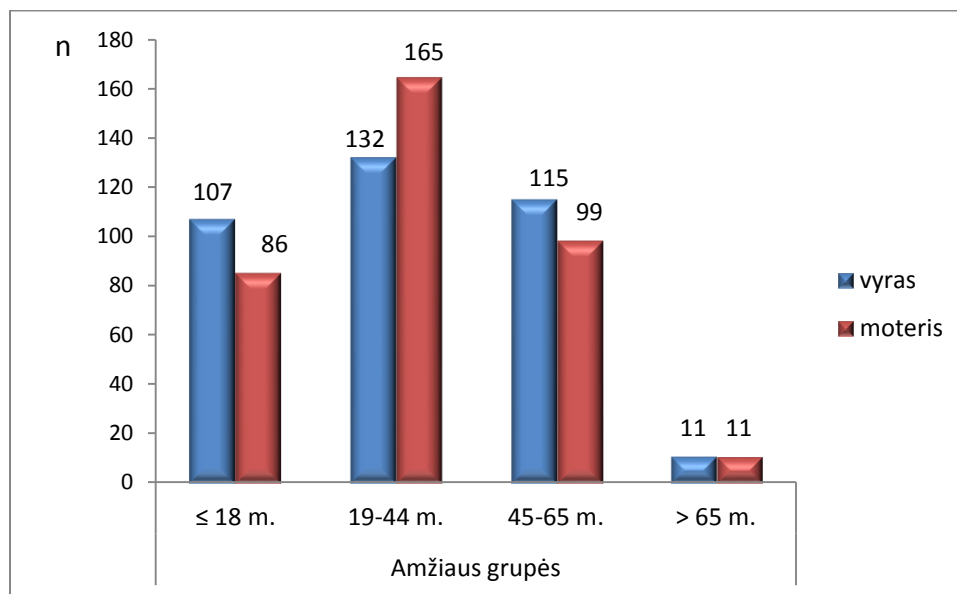


**7 pav.** Tiriamosios grupės pasiskirstymas pagal (a) Lietuvos miestus, (b) etnolingvistinius regionus (Remiantis A. Girdenio ir Z. Zinkevičiaus tarmių klasifikacija (pagal Lietuvių kalbos atlaso I (1977 m.) žemėlapi Nr. 1)

Tiriamąją grupę sudarė atsitiktinės imties būdu atrinkti 726 lietuvių kilmės 4–85 metų asmenys iš šešių Lietuvos etnolingvistinių regionų (29 miestų ir miestelių): 64 (8,9 %) gyvenantys Rytų Aukštaitijoje (RA), 70 (9,6 %) – Pietų Aukštaitijoje (PA), 97 (13,4 %) – Vakarų Aukštaitijoje (VA), 247 (34 %) – Šiaurės Žemaitijoje (ŠŽ), 181 (24,9 %) – Pietų Žemaitijoje (PŽ) ir 67 (9,2 %) – Vakarų Žemaitijoje (VŽ) (**7 pav.**).

Tiriamieji asmenys atvyko į savo gyvenamojo miesto ar rajono PSPC (tyrime dalyvavusių PSPC sąrašas pateikiamas **1 priede**).

Tiriamosios grupės pasiskirstymas pagal amžių ir lytį vaizduojamas **8 paveiksle**. Tiriamosios grupės 50,3 % asmenų sudarė moterys ir 49,7 % – vyrai; 66,9 % gyveno miestuose ir miesteliuose bei 33,1 % – kaime. Tiriamųjų lietuvių kilmė patvirtinta trijose kartose, t. y. tiriamojo asmens tėvai ir jų tėvai yra lietuviai.



**8 pav.** Tiriamosios grupės struktūra pagal amžių ir lytį

Tiriamosios grupės asmenų charakteristika pateikiama **6 lentelėje**.

**6 lentelė.** Tiriamosios grupės charakteristika

Rodiklis	Amžiaus grupės (m.)							
	≤ 18		19–44		45–65		> 65	
	n=193		n=297		n=214		n=22	
	V	SN	V	SN	V	SN	V	SN
Amžius (m.)	14	3	35	9	52	5	74	7
Ūgis (cm)	160	34	170	24	168	25	167	9
Svoris (kg)	56	19	76	22	87	48	81	17
KMI (kg/m <sup>2</sup> )	20	4	26	6	30	18	29	4
Gliukozė (mmol/l)	5,06	0,79	5,31	1	5,71	1,45	5,43	0,63
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	4,45	0,88	5,69	1,18	6,2	1,19	6,42	1,23
Triacilgliceroliai (mmol/l)	0,83	0,4	1,39	1,01	1,6	1,67	1,43	0,52
DTL cholesterolis (mmol/l)	1,45	0,3	1,44	0,36	1,4	0,36	1,36	0,26
MTL cholesterolis (mmol/l)	2,62	0,74	3,6	1,01	4,08	1,05	4,4	1,09
hsCRB (mg/l)	1,02	2,53	2,04	3,37	2,35	3,44	6,05	9,47
Apoproteinas A-I (g/l)	1,49	0,24	1,61	0,29	1,63	0,28	1,56	0,29
Apoproteinas B (g/l)	0,67	0,18	0,93	0,28	1,07	0,26	1,07	0,23
Lipoproteinas a (g/l)	0,16	0,24	0,19	0,24	0,22	0,28	0,17	0,24

V – vidurkis, SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

Siekiant įvertinti kraujo serumo karotenoidų vidutinės koncentracijos sąsajas su sergamumu širdies ir kraujagyslių ligomis bei kraujo biocheminiais šių ligų rizikos veiksniais, iš bendros tiriamosios grupės atrinkti visi asmenys, sergantys širdies ir kraujagyslių ligomis (miokardo infarktu ir/ar insultu) – iš viso 50 asmenų – ir atsižvelgiant į amžių sudaryta lyginamoji grupė iš 316 asmenų, nesergančių širdies ir kraujagyslių ligomis. Minėtų grupių charakteristika pateikiama **7 lentelėje**.

Genomo žymenų tyrimui iš bendros tiriamosios grupės atsitiktine tvarka atrinkta 220 negiminingų 40–65 metų amžiaus asmenų (50,5 % tiriamosios grupės asmenų sudarė moterys ir 49,5 % – vyrai).

**7 lentelė.** Sergančių širdies ir kraujagyslių ligomis bei šiomis ligomis nesergančių tiriamųjų charakteristika

Rodiklis			Sergantys ŠKL		Nesergantys ŠKL	
			n=316		n=50	
Lytis	Vyrai	n	164		21	
	Moterys	n	152		29	
			Vidurkis	SN	Vidurkis	SN
Amžius (m.)			53	9	58	7
Ūgis (cm)			169	23	163	36
Svoris (kg)			85	42	83	21
KMI (kg/m <sup>2</sup> )			29	15	29	4
Gliukozė (mmol/l)			5,66	1,37	5,63	1,41
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)			6,17	1,09	6,15	1,40
Triacilgliceroliai (mmol/l)			1,55	1,48	1,63	1,09
DTL cholesterolis (mmol/l)			1,41	0,36	1,42	0,42
MTL cholesterolis (mmol/l)			4,06	0,99	3,98	1,15
hsCRB (mg/l)			2,16	2,83	4,57	8,28
Apoproteinas A-I (g/l)			1,62	0,28	1,63	0,34
Apoproteinas B (g/l)			1,05	0,25	1,08	0,31
Lipoproteinas a (g/l)			0,19	0,24	0,26	0,32

SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

### 3.2. Tyrimo eiga ir metodikos

#### 3.2.1. Demografinių ir gyvenamosios veiksmų bei sergamumo tyrimo metodikos

Gyvenamosios, šeiminės anamnezės, mitybos įpročiams, sveikatos būklei nustatyti atlikta anketinė apklausa naudojant validuotą klausimyną (Kristenson 1997; Mažeikienė 2008). Klausimyną sudarė klausimai apie tiriamųjų demografinius duomenis, gyvenamosios ir mitybos įpročius, sveikatos būklę.

Tiriamųjų buvo prašoma pagal pateiktus 4 grupių pavydžius įvertinti savo fizinę veiklą ir judėjimą darbe bei laisvalaikiu (per paskutiniuosius kelerius metus).

Detalus grupių apibūdinimas pateiktas **8 lentelėje**.

**8 lentelė.** Fizinio aktyvumo grupių darbe ir laisvalaikiu apibūdinimas

Fizinio aktyvumo grupė	Fizinis aktyvumas	
	Darbe	Laisvalaikiu
• <b>1 grupė</b>	Darbas yra iš esmės sėdimas, ir darbo metu daug nevaikštoma. Pvz.: darbas prie rašomojo stalo.	Laisvalaikis daugiausia skiriamas skaitymui, televizoriaus žiūrėjimui, kino teatro lankymui ir kitai fiziškai neaktyviai veiklai.
• <b>2 grupė</b>	Dirbant reikia gana daug vaikščioti, bet nereikia nešioti arba kilnoti sunkių daiktų. Pvz.: klientų aptarnavimas, lengvas pramoninis darbas, pardavėjo darbas, dėstymas, kai daug vaikštoma.	Mažiausiai 4 kartus per savaitę einama pasivaikščioti, važinėjama dviračiu ar kitaip judama. Čia įeina ir ėjimas arba važiavimas dviračiu į darbą bei atgal, sekmadieniniai pasivaikščiojimai, nesunkus darbas sode, žvejyba, stalo tenisas, žaidimas kėgliais.
• <b>3 grupė</b>	Daug vaikštoma, be to, reikia kilnoti daiktus arba daug laiptuoti aukštyn ir žemyn. Pvz.: paštininko darbas, sunkesnės pramonės darbai, statybos, sunkesnis darbas restorane.	Laisvalaikis skiriamas bėgiojimui, plaukimui, lauko tenisui, badmintonui, aerobikai ir kitoms panašioms judrioms sporto šakoms. Šiai grupei priklauso sunkesni sodo darbai. Tokia veikla turi būti užsiimama bent 3 kartus per savaitę
• <b>4 grupė</b>	Sunkus fizinis darbas, kai kilnojami sunkūs daiktai ir dirbama fiziškai intensyviai. Pvz.: slaugos darbai, sunkūs tvarkymo darbai.	Laisvalaikis skiriamas sunkioms treniruotėms bei dalyvavimui reguliariai vykstančioms bėgimo, orientavimosi, slidinėjimo, plaukimo, futbolo, rankinio varžyboms porą kartų per savaitę.

Anketinės apklausos būdu vertinti ir rūkymo (išskiriant 4 grupes: kasdien rūkantys, retkarčiais rūkantys, metę rūkyti ir niekada nerūkę) bei alkoholio



vartojimo (sudarytos 4 tiriamųjų grupės: dažnai vartojančių, kai kada, nevartojančių, anksčiau vartojusių) įpročiai.

Tiriamieji anketinės apklausos būdu pateikė duomenis apie sergamumą širdies ir kraujagyslių ligomis (miokardo infarktu, insultu). Atsitiktinai atrinktų 8 % apklaustųjų anketiniai duomenys apie sveikatos būklę patikrinki PSPC medicininėje dokumentacijoje. Visų asmenų, anketoje nurodžiusių, jog serga širdies ir kraujagyslių ligomis, diagnozės atitiko pateiktas medicininėje dokumentacijoje.

Anketinėje apklausoje tiriamųjų prašyta nurodyti savo ūgį ir svorį. KMI apskaičiuotas pagal formulę:

$$\text{KMI (Ketlė indeksas)} = \text{svoris (kg)} / \text{ūgis (m}^2\text{)}$$

Tiriamieji pagal KMI reikšmę buvo suskirstyti į keturias grupes: per mažo svorio (KMI <18,5 kg/m<sup>2</sup>), normalaus svorio (KMI 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup>), antsvorio (KMI 25–29,9 kg/m<sup>2</sup>) ir nutukimo (KMI ≥30 kg/m<sup>2</sup>) (Tutkuvienė ir kt. 2004).

### **3.2.2. Likopeno suvartojimo tyrimo metodika**

Maistiniai likopeno šaltiniai ir jų suvartojimas tirtas taikant 24 valandų trijų dienų iš eilės anketinės apklausos metodą, atkreipiant ypatingą dėmesį į daug likopeno turinčių produktų – pomidorų ir jų produktų (šviežių pomidorų, virtų pomidorų, konservuotų pomidorų, pomidorų padažų, pomidorų sriubos (sutirštintos), pomidorų sulčių, kečupų), abrikosų (džiovintų), rožinių greipfrutų (šviežių), arbūzų (šviežių), papajų, gvajavos – vartojimą. Tiriamųjų asmenų buvo prašoma kuo tiksliau nurodyti faktinį minėtų produktų suvartotą kiekį ar porcijos dydį. Likopeno kiekis, įsisavinamas vartojant šiuos produktus, skaičiuotas remiantis Europos karotenoidų duomenų bazės duomenimis (O’Neill ir kt. 2001). Šioje duomenų bazėje nurodyti įvairių Europos šalių apibendrinti duomenys apie įvairiuose maisto produktuose esantį likopeno kiekį (miligramais 100 g produkto svorio).

### 3.2.3. Kraujo paėmimas, mėginio paruošimas, laikymas ir gabenimas

Tiriamieji asmenys į savo gyvenamojo miesto ar rajono PSpC atvyko tarp 7:30 ir 10 valandos ryto dvylika valandų iki tyrimo nevalgę, nerūkę, nevartoję alkoholio, medikamentų; čia jiems paimti veninio kraujo ėminiai – tam naudotas 5 ml vakuuminis mėgintuvėlis *BD Vacutainer SST II Advance (Becton Dickinson, JAV)*. Praėjus 40 min. nuo kraujo paėmimo, mėgintuvėliai centrifuguoti 10 min. 3000 aps./min. greičiu (naudota LMC-3000 centrifuga (*Biosan, Latvija*)). Iki gabenimo mėginiai laikyti (+2)–(+8) °C temperatūroje šaldytuve. Vengiant temperatūros svyravimų atšaldyti mėginiai gabenti temperatūros pokyčiams atsparioje talpykloje (putų polistirolu dėžėje). Serumo mėginiai per 3–6 val. pristatyti į VUL SK Laboratorinės medicinos centrą, kur iki tyrimo laikyti šaldiklyje, –80 °C temperatūroje. Karotenoidų koncentracijos tyrimas ESCh metodu atliktas per 6–12 mėn. nuo mėginių paėmimo. Kraujo paėmimas, ėminio paruošimas, gabenimas bei visi tolesni tyrimo etapai atlikti vengiant tiesioginės saulės šviesos ar intensyvaus dirbtinio apšvietimo, kad karotenoidai būtų apsaugoti nuo skilimo ar izomerizacijos.

### 3.2.4. Karotenoidų koncentracijos kraujo serume nustatymas

Šešių kraujo serumo karotenoidų – liuteino, zeaksantino,  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karoteno,  $\beta$ -kriptoksantino ir likopeno – kiekiai buvo nustatyti tiriamosios grupės asmenų serume ESCh metodu.

#### 3.2.4.1. Mėginio paruošimas

##### Reagentai:

- echinenonas ( $\beta, \beta$ -karoten-4-onas) (*Chromadex, JAV*)
- n-heksanas, skirtas ESCh (*Merck, Vokietija*)
- etanolis, skirtas ESCh (*Merck, Vokietija*)
- butilhidroksitoluenas (*Merck, Vokietija*)

- metanolis, skirtas ESCh, 99,9 % grynumo (*Sigma-Aldrich*, Vokietija)
- tert-butilmetileteris, skirtas ESCh, 99,8 % grynumo (*Carl Roth*, Vokietija)
- azoto dujos (> 99,99 %)

**Įranga ir laboratoriniai reikmenys:**

- sūkurinis maišytuvas „RS-VF10“ (*Phoenix instrument GmbH*, Vokietija)
- mikrocentrifuga „Velocity“ 13 μ (*Dynamica*, JK)
- garintuvas-inkubatorius, modelis DB28125 (*Barnstead Thermolyne*, JAV)
- keičiamo tūrio mikrolitrinės pipetės ACURA, 20–200 ml ir 100–1000 ml tūrio (*Socorex*, Šveicarija)
- mikromėgintuvėliai (2 ml tūrio)
- plačiagurkliai chromatografiniai užsukami rudo stiklo buteliukai, skirti ESCh (*Agilent Technologies*, JAV)
- užsukami kamštėliai su PTFE/silikono tarpine, skirti ESCh (*Agilent Technologies*, JAV)
- įdėklai į plačiagurklius buteliukus, 250 μl talpos, skirti ESCh (*Agilent Technologies*, JAV)
- laboratoriniai indai

Karotenoidų ekstrakcija ir ESCh tyrimas atliktas remiantis Boehm ir kt. metodika (Boehm ir kt. 2006). Kaip vidinis standartas naudotas etanolinis echinenono tirpalas (50 μl echinenono standarto tirpalo 10 ml etanolio). Į mikromėgintuvėlį su 1 ml serumo įdėjus 500 μl vidinio standarto, tiriamasis mėginys 30 sekundžių maišytas sūkuriniu maišytuvu. Tuomet į mėginį įdėta 400 μl heksano su 0,1 % butilhidroksitoluenu, maišyta 1 minutę ir centrifuguota 2 minutes. Centrifugavimo greitis 14 000 aps./min. Ekstrakcijos etapai pakartoti dar du kartus kiekvienam mėginiui. Paviršinis (heksano) sluoksnis kaskart po centrifugavimo perpiltas į naują mikromėgintuvėlį ir galiausiai visiškai išdžiovintas švelniu azoto dujų srautu 30±1 °C temperatūroje. Nuosėdos

ištirpintos naudojant 250 µl MeOH ir MTBE (1:1, v/v) mišinio ir 4 min. centrifuguotos 13 000 aps./min. greičiu. Paviršinis sluoksnis perkeltas į rudo stiklo chromatografinį buteliuką, skirtą ESCh.

#### 3.2.4.2. Karotenoidų standartų tirpalų paruošimas

##### Reagentai:

- karotenoidų standartai (kristalų pavidalo), skirti ESCh, grynumas 95–98 % (*Chromadex*, JAV):
- β-karotenas (β,β-karotenas) 96 %, β-kriptoksantinas (3*R*)-β,β-karoten-3-olis) 97 %, α-karotenas (6'*R*)-β,ε-karotenas) 97 %, echinenonas (β,β-karoten-4-onas) 98 %, liuteinas (ksantofilas (3*R*,3'*R*,6'*R*)-β,ε-karoten-3,3'-diolis) 96 %, likopenas (ψψ-karotenas) 95 %, zeaksantinas (3*R*,3'*R*)-β,β-karoten-3,3'-diolis) 97 %
- toluenas (*Merck*, Vokietija)
- cikloheksanas (*Merck*, Vokietija)

##### Įranga ir laboratoriniai reikmenys:

- membraniniai filtrai, porų dydis 0,2 µm (*Macherey-Nagel*, Vokietija)
- ultragarsinė vonelė USC100T (*VWR*, Belgija)
- rudas plastikinis DTP butelis, 15 ml

Tiriamąjį mėginį karotenoidai identifikuoti naudojant karotenoidų standartus (kristalų pavidalo, grynumas 95–98 %), skirtus ESCh. Kristalinės būsenos karotenų standartai buvo ištirpinti tolueno ir cikloheksano mišinyje (1:4, v/v); liuteino ir zeaksantino standartai ištirpinti etanolyje (1:10) ir išpilstyti į rudo plastiko DTP buteliukus. Nuosėdoms pašalinti naudota ultragarsinė vonelė ir membraniniai filtrai. Karotenoidų standartų tirpalai buvo laikomi šaldiklyje –20 °C temperatūroje.

Kaskart prieš tyrimą buvo paruošiami karotenoidų standartų darbiniai tirpalai. Tuo tikslu minėti standartiniai tirpalai praskiesti judriąja faze (MeOH:

MTBE (1:1, v/v)) santykiu 1:50, 1:100, 1:250 ir 1:500. Chromatografiniam tyrimui naudota po 20 µl šių darbinių tirpalų.

### 3.2.4.3. *Karotenoidų standartų tirpalų koncentracijos spektrofotometrinis tyrimas*

#### **Reagentai:**

- karotenoidų standartų tirpalai (~40–150 µg/ml): karotenoidų standartai tolueno ir cikloheksano mišinyje (1:4); liuteino ir zeaksantino standartai etanolyje (1:10)
- n-heksanas, skirtas ESCh (*Merck*, Vokietija)
- etanolis, skirtas ESCh (*Merck*, Vokietija)
- petrolio eteris, skirtas ESCh (*B.D.H.*, D. Britanija)

#### **Įranga ir laboratoriniai reikmenys:**

- kvarcinio stiklo mikrokuvetė, 1 cm optinio sluoksnio storio (10 mm, 45X12,5X12,5 mm, 700 µl) (*Hellma*, Vokietija)
- šlifinės skaidraus stiklo matavimo kolbutės stikliniu kamščiu (*Brand*, Vokietija)
- Pastero pipetės, stiklinės, 150 mm ilgio, negraduotos
- spektrofotometras „Agilent 8453“ (*Agilent Technologies*, JAV)
- ultragarsinė vonelė „USC100T“ (*VWR*, Belgija)
- išgrynintas dejonizuotas vanduo, ruošiamas vandens valymo sistema (*Millipore*, JAV)
- svarstyklės „Sartorius“ (*CP64-OCE*, Vokietija)

Periodiškai buvo atliekamas spektrofotometrinis karotenoidų standartų tirpalų koncentracijos tyrimas. Karotenoidų standartų tirpalai skiedžiami santykiu 1:10, 1:20 ar 1:50 etanoliu, heksanu arba petrolio eteriu ir spektrofotometriniu metodu nustatytas ekstinkcijos koeficientas esant atitinkamam specifiniam bangos ilgiui. Bangos ilgis ir  $E_{1\%, 1\text{cm}}$  vertės pateikiamos **9 lentelėje**.

**9 lentelė.** Karotenoidų standartų tirpalų koncentracijai apskaičiuoti naudojami tirpikliai, bangos ilgis ir  $E_{1\%, 1\text{cm}}$  vertės (Craft ir kt. 1988; Olmedilla ir kt. 1990; Hart ir kt., 1995; Britton ir kt. 2004)

Karotenoidas	Tirpiklis	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$E_{1\%, 1\text{cm}}$	Praskiedimas
(E)-liuteinas	Etanolis	445	2550	1:10
(E)-zeaksantinas	Etanolis	450	2480	1:10
(E)- $\beta$ -kriptoksantinas	Petrolio eteris	449	2400	1:20
(E)- $\beta$ -karotenai	n-heksanas	450	2590	1:20
(E)- $\alpha$ -karotenai	n-heksanas	445	2710	1:20
(E)-likopenas	Petrolio eteris	470	3450	1:50

Skaičiavimas:

Specifinis ekstinkcijos koeficientas  $E_{1\%, 1\text{cm}}$  apibrėžiamas kaip teorinis 1 % (t. y. 1 g 100 ml) koncentracijos tirpalo absorbcijos dydis 1 cm optinio sluoksnio storio kvarcinio stiklo kiuvetėje.

Karotenoido standarto tirpalo koncentracija (c) apskaičiuojama pagal formulę:

$c [\text{g}/100\text{ml}] = ((E \times 1\text{g}/100\text{ml}) / E_{1\%, 1\text{cm}}) \times \text{praskiedimo faktorius}$
<p>mūsų atveju: <math>E = E_{\text{karotenoido standarto tirpalo}} - E_{\text{tirpiklio}}</math></p>
$c [\mu\text{g}/\text{ml}] = E \times 1000 / E_{1\%, 1\text{cm}} \times 10 \times \text{praskiedimo faktorius (10, 20 ar 50)}$

#### 3.2.4.4. Chromatografinis karotenoidų išskyrimas ir identifikavimas

##### Reagentai:

- metanolis, skirtas ESCh, 99,9 % grynumo (*Sigma-Aldrich*, Vokietija)
- tert-butilmetileteris, skirtas ESCh, 99,8 % grynumo (*Carl Roth*, Vokietija)

##### Įranga:

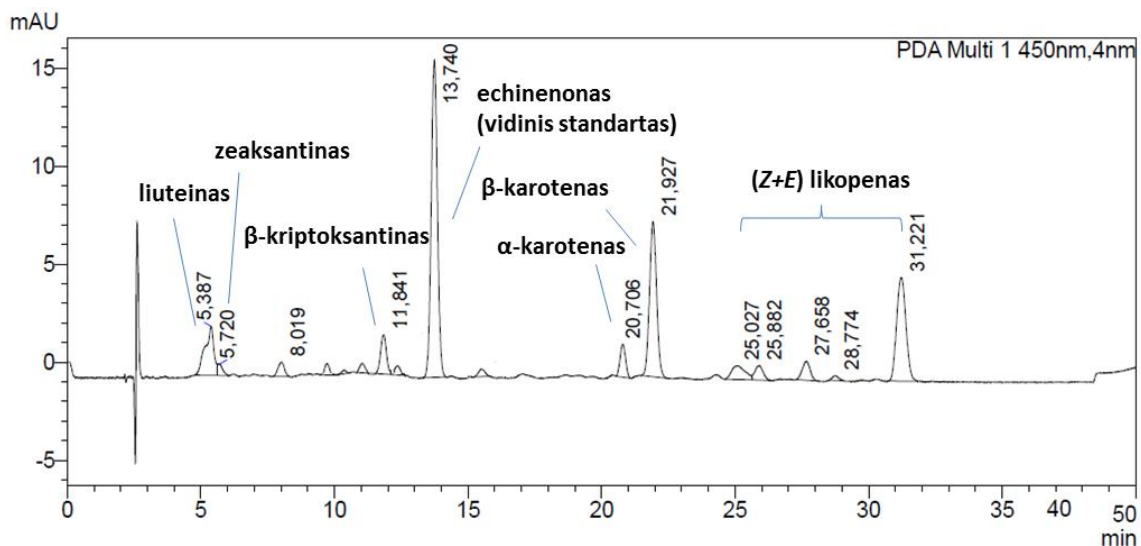
- Efektyviosios skysčių chromatografijos sistema (*Shimadzu Prominence*, Japonija)
  - kolonėlių termostatas CTO20AC
  - UV regimojo spektro spindulių spektrofotometrinis detektorius, SPD-M20A
  - sistemos valdiklis CBM-20A
  - tirpiklių tiekimo blokas LC-30AD
  - dujų šalinimo įrenginys DGU-20A5R
  - automatinis dozatorius SIL-30AC
- ESCh kolonėlė, Stabilit 100 C30, 250 mm x 4,6 mm; dalelių dydis 5 μm (*Dr. Maisch GmbH*, Vokietija)
- ESCh apsauginės prieškolonėlės, C30, 20 mm x 4,6 mm (*Dr. Maisch GmbH*, Vokietija)
- ESCh apsauginių kolonėlių laikiklis (*Dr. Maisch GmbH*, Vokietija)

Chromatografijos tyrimas atliktas efektyviosios skysčių chromatografijos sistema (*Shimadzu Prominence*, Japonija), naudojant C30 (250 mm x 4,6 mm; dalelių dydis 5 μm) ESCh kolonėlę ir apsaugines prieškolonėles (C30, 20mm x 4,6 mm). Kolonėlės temperatūra: 23±1 °C. ESCh tyrimo metu injekuotas mėginio tūris – 30 μl. Naudota dvikomponentė judrioji fazė iš metil-tert-butileterio ir metanolio, jos tėkmės greitis 1,3 ± 1 ml/min.; gradientinių sąlygų kitimas tyrimo metu parodytas **10 lentelėje**.

**10 lentelė.** Judriosios fazės sudėties ir gradientinės eliucijos formavimo ESCh metodu parametrai

Laikas (min.)	MeOH (%)	MTBE (%)
0,01	90	10
35	55	45
45	40	60
50	90	10

Detekcijai naudotas UV ir regimojo spektro spindulių spektrofotometrinis detektorius, bangos ilgis – 450 nm (470 nm – likopeno koncentracijai nustatyti). Serumo karotenoidų chromatogramos pavyzdys pateikiamas **9 paveiksle**. Liuteinas ir zeaksantinas yra izomerai, turintys identišką cheminę formulę bei pasižymintys bendromis biologinėmis funkcijomis. Todėl tyrimo metu buvo skaičiuojama suminė šių junginių koncentracija.



**9 pav.** Serumo karotenoidų chromatogramos pavyzdys

### 3.2.4.5. *Kokybės kontrolė*

Dirbant laboratorijoje yra laikomasi geros laboratorinės praktikos, išorinio kokybės kontrolės vertinimo, laboratorijos priežiūros, parengimo darbui laboratorijoje ir protokolų reikalavimų.

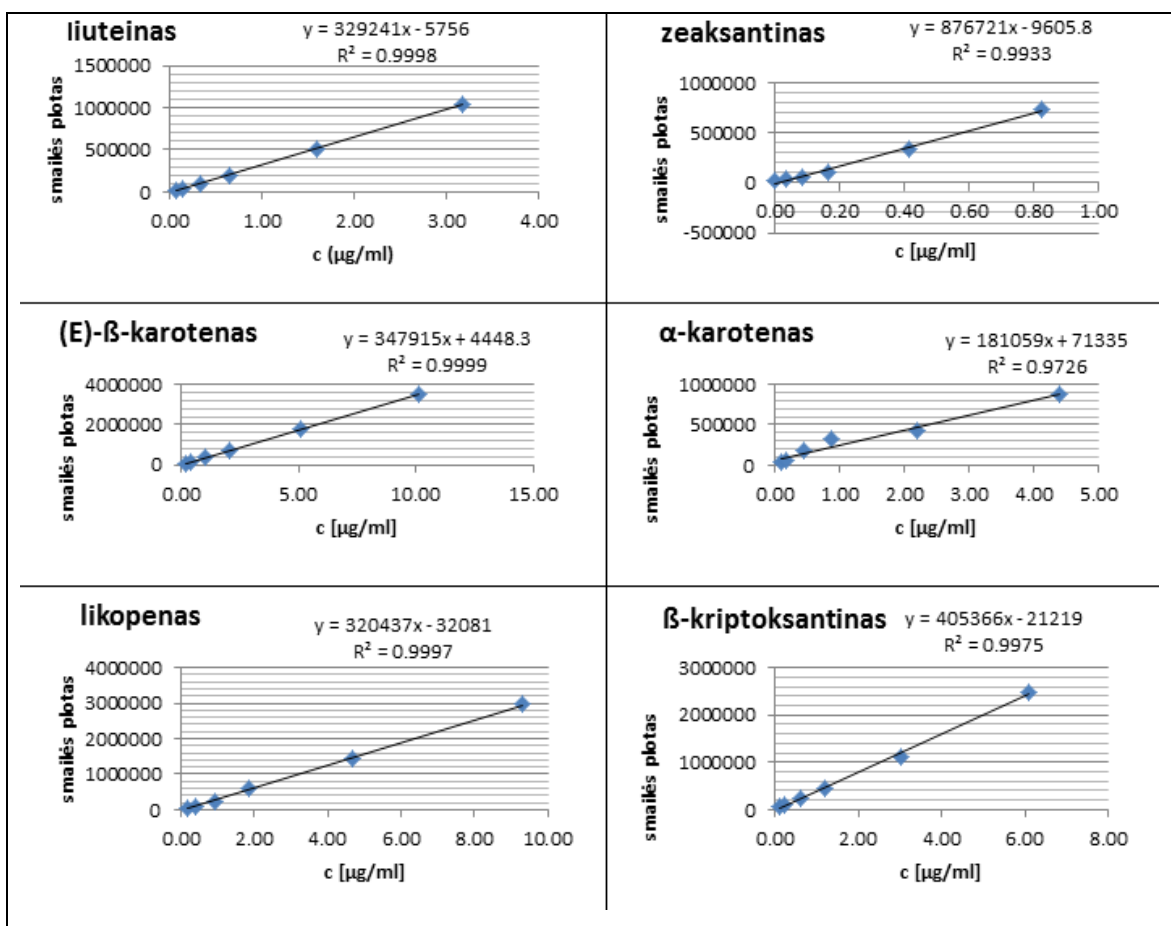
Tyrimo metu karotenoidų koncentracija tirta bent dviejuose kiekvieno tiriamojo asmens kraujo serumo mėginiuose. Vidinio standarto atkuriamumas  $92 \pm 12 \%$ .

Periodiškai buvo atliekamas spektrofotometrinis karotenoidų standartų tirpalų koncentracijos tyrimas ir prietaiso kalibravimas. Chromatografas



kalibruojamas naudojant kalibracinius karotenoidų standartus, paruoštus skirtingomis koncentracijomis, kurios atitinka analitės prognozuojamą koncentracijų intervalą mėginiuose. Kalibracinės kreivės buvo sudarytos iš šešių skirtingos koncentracijos taškų, kurių kiekvienas gaunamas pakartojant tyrimą tris kartus ir apskaičiuojant vidurkį. Kalibracinių kreivių pavydžiai pateikiami **10 paveiksle**.

Išorinė tyrimų kokybės kontrolė atlikta Vokietijoje Jenos Frydricho Šilerio universiteto Mitybos mokslų instituto Augalų bioaktyvių junginių tyrimo laboratorijoje. Variacijos koeficientas neviršijo 10 %.



**10 pav.** Karotenoidų standartų kalibracinių kreivių pavyzdžiai

### 3.2.5. Biocheminiai kraujo rodiklių tyrimai

Biocheminiai kraujo tyrimai atlikti nedelsiant, kai tik mėginiai buvo atgabenti į VUL SK LMC Biochemijos laboratoriją. Metodų ir analizatorių sąrašas pateikiamas **11 lentelėje**.

**11 lentelė.** VUL SK Laboratorinės medicinos centro Biochemijos laboratorijoje atliktų biocheminių kraujo tyrimų metodai ir analizatoriai

<b>Tyrimo pavadinimas</b>	<b>Tyrimo metodas</b>	<b>Analizatorius</b>
Bendrojo cholesterolio koncentracija	Fermentinis (cholesterolesterazės/cholesteroloksidazės) kolorimetrinis	Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija	Fermentinis dviejų pakopų (cholesterolesterazės/cholesteroloksidazės) kolorimetrinis	Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Mažo tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija	Apskaičiuota naudojant Friedewaldo formulę  *jei TAG>4,5 mmol/l, taikytas tiesioginis dviejų pakopų fermentinio klirenso metodas	_____  *Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Triacilglicerolių koncentracija	Fermentinis (glicerofostafoksidazės) kolorimetrinis	Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Didelio jautrumo C reaktyviojo baltymo koncentracija	Imunoturbidimetrinis	Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Gliukozės koncentracija	Imunoturbidimetrinis (heksokinazės/gliukozės 6–fosfatdehidrogenazės fermentinis)	Architect ci8200 (Abbott, JAV)
Apolipoproteino A-I koncentracija	Imunonefelometrinis	BN II (Siemens, Vokietija)
Apolipoproteino B koncentracija	Imunonefelometrinis	BN II (Siemens, Vokietija)
Lipoproteino a koncentracija	Imunonefelometrinis	BN II (Siemens, Vokietija)

### 3.2.6. Genomo duomenų tyrimas

Genotipavimas atliktas *Illumina Infinium® HD* VNP lustais (~770 000 VNP) *HumanOmniExpress-12 v1.1* (VUL SK Medicininės genetikos centro Molekulinės genetikos ir citogenetikos laboratorijoje) ir *HumanOmniExpress-12 v1.0*. (Tartu universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos institute Estijoje).

Tiriamieji buvo genotipuoti pagal 91 VNP 9 genuose kandidatuose: *APOE*, *BCMO1*, *NPC1L1*, *CD36*, *GSTP1*, *ABCG5*, *FABP1*, *FABP2* ir *LIPC*.

DNR išskyrimas ir DNR koncentracijos bei švarumo nustatymas, genotipavimas, bioinformacinė ir statistinė pirminių duomenų kokybės analizė atlikta VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedros darbuotojų. Naudota įranga ir išsamūs procedūrų aprašai pateikiami dr. Ingridos Domarkienės daktaro disertacijoje (Domarkienė 2015).

### 3.2.7. Statistinė duomenų analizė

Darbe naudoti aprašomosios ir analitinės statistikos metodai. Kiekybiniam kintamiesiems aprašomoji statistika pateikiama aritmetiniu vidurkiu, mediana, standartiniu nuokrypiu (SD) ir jo 95 % pasikliautiniu intervalu (PI), kvartiliais, kokybiniam – absoliučiu skaičiumi (n) ir procentine dalimi (%). Kiekybinių kintamųjų pasiskirstymui pagal normalųjį skirstinį vertinti naudotos histogramos, o atitinkamai statistinei hipotezei tikrinti – Kolmogorovo ir Smirnovo kriterijus. Jei kintamųjų skirstiniai neatitiko normaliojo skirstinio, skirtumams tarp kintamųjų skirstinių įvertinti buvo taikyti neparametriniai kriterijai (Mano ir Vitnio U testas bei Kruskalo ir Voliso kriterijus). Statistinis ryšys tarp kintamųjų įvertintas Pirsono (kai yra tenkinama normalumo prielaida) arba Spirmeno koreliacijos koeficientu (r). Koreliacija buvo vertinama kaip silpna ( $r < 0,3$ ), vidutinė ( $0,3 \leq r \leq 0,7$ ), stipri ( $r > 0,7$ ). Rezultatai laikomi statistiškai reikšmingais, kai paklaidos tikimybės reikšmė  $p < 0,05$ . Kiekybinių duomenų logaritmavimas leido naudoti dispersinę analizę (ANOVA) pradžioje ne pagal normalųjį skirstinį

pasiskirsčiusiems kintamiesiems ir tokiu būdu buvo įvertinti imčių vidurkių skirtumai. Norint įvertinti, kurių imčių vidurkiai statistškai reikšmingai skiriasi, naudotas daugkartinio lyginimo Bonferonio kriterijus. Priklausomojo kintamojo reikšmėms prognozuoti pagal nepriklausomų kintamųjų reikšmes buvo naudotas daugelio faktorių tiesinės regresijos metodas. Nepriklausomas kintamasis buvo įtraukiamas į regresijos lygtį, jei jo  $p$  reikšmė neviršijo 0,05. Vertinant kokybinių kintamųjų statistinį ryšį (nepriklausomumo hipotezei tikrinti) naudotas Pirsono  $\chi^2$  (chi kvadratu) kriterijus. Duomenis aprašant keturlauke (2x2) dažnių lentele, jei nors vienas tikėtinas stebėjimų skaičius buvo mažesnis kaip penki, papildomai skaičiuojamas tikslusis Fišerio kriterijus. Rizikos kintamąjį analizuojant priežastinio (nepriklausomo) kintamojo atžvilgiu, vertintas šansų santykis (ŠS); pastarasis laikytas statistiškai reikšmingu, jeigu vienetas neįėjo į 95 % pasikliautinąjį intervalą.

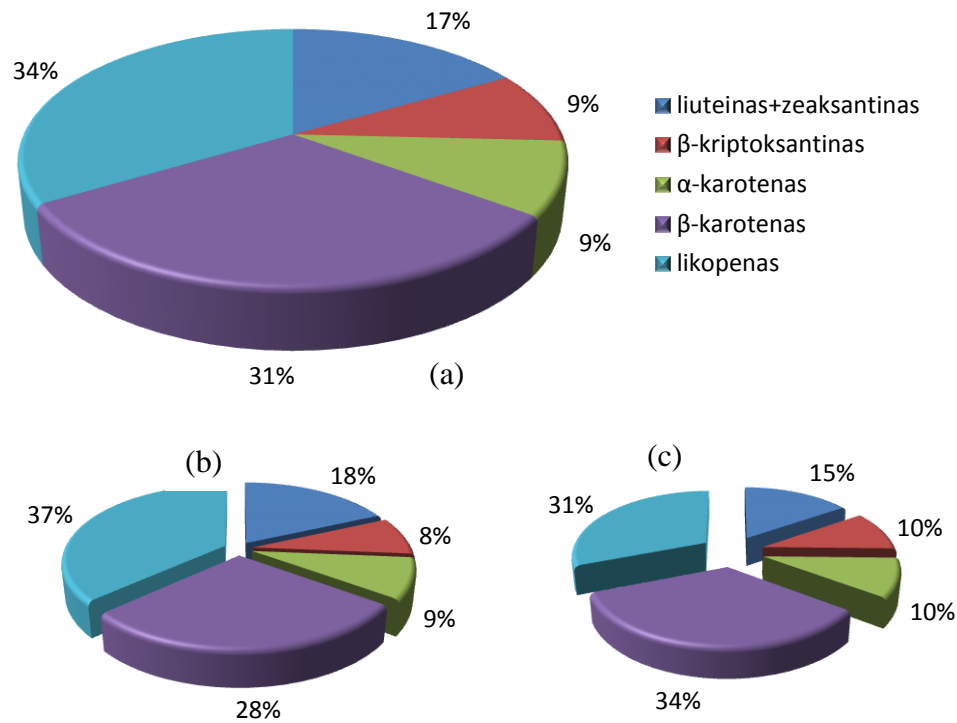
Statistinei duomenų analizei naudotos *Microsoft Excel* ir *SPSS* (IBM SPSS v21.0) programos. Likopeno kiekio maisto produktuose apskaičiuoti naudota *Nutrisurvey* programa. Hardžio ir Vainbergo pusiausvyra ir alelių dažniai nustatyti naudojant *PLINK v1.07* programą.

Tyrimo imčiai apskaičiuoti naudota atviros prieigos programos *OpenEpi* 2.02 versija (šaltinis internete <http://www.openepi.com>). Remiantis atlikta literatūros šaltinių duomenų analize, įvertinti serumo karotenoidų koncentracijų skirtumai: labiausiai tikėtasi likopeno koncentracijos vidurkių ir SN skirtumų tarp sergančių ŠKL ir nesergančių ŠKL asmenų grupių. Skaičiuojant imties dydį, pasirinkta tyrimo galia 80 %,  $\alpha$  klaidos tikimybė 0,05.

## 4. TYRIMO REZULTATAI

### 4.1. Karotenoidų koncentracijos kraujo serume tyrimo rezultatai

Kraujo serume nustatyta pavienių karotenoidų ir bendra jų vidutinė koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ ): liuteino + zeaksantino ( $0,278 \pm 0,131$ ),  $\beta$ -kriptoksantino ( $0,15 \pm 0,168$ ),  $\alpha$ -karoteno ( $0,153 \pm 0,121$ ),  $\beta$ -karoteno ( $0,522 \pm 0,37$ ), likopeno ( $0,557 \pm 0,299$ ), bendra ( $1,60 \pm 0,72$ ). Vyraujantys (65 %) kraujo karotenoidai – likopenas ir  $\beta$ -karotenas (**11 pav.**).



**11 pav.** Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo karotenoidai: (a) bendroje populiacijoje, (b) vyrų grupėje, (c) moterų grupėje

### 4.2. Demografinių ir gyvenamos veiksmų sąsajos su karotenoidų koncentracija kraujo serume

Tyrimo metu vertinti pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos kraujo serume skirtumai atsižvelgiant į lytį (**12 lent.**). Moterų kraujo serume bendros karotenoidų koncentracijos vidurkis buvo reikšmingai ( $p=0,0015$ ) didesnis nei vyrų (atitinkamai  $1,75 \pm 0,75$  ir  $1,46 \pm 0,66$   $\mu\text{mol/l}$ ). Moterų grupėje serumo  $\beta$ -kriptoksantino koncentracija buvo 1,5 karto,  $\alpha$ -karoteno ir  $\beta$ -karoteno – 1,4 karto didesnė nei vyrų.

**12 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas skirtingų lyčių tiriamųjų grupėse

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Lytis		ANOVA (p reikšmė)
		Vyras	Moteris	
		n=365	n=361	
Liuteinas+zeaksantinas	Vidurkis	0,28	0,28	0,653
	SN	0,13	0,14	
$\beta$ -kriptoksantinas	Vidurkis	0,12	0,18	0,0000*
	SN	0,11	0,2	
$\alpha$ -karotenas	Vidurkis	0,13	0,18	0,0000*
	SN	0,1	0,14	
$\beta$ -karotenas	Vidurkis	0,43	0,61	0,0000*
	SN	0,32	0,4	
Likopenas	Vidurkis	0,56	0,56	0,45
	SN	0,32	0,28	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,46	1,75	0,0015*
	SN	0,66	0,75	

\* – statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė  $<0,05$ ), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

Statistiškai reikšmingai ( $p<0,01$ ) skyrėsi visų tirtų karotenoidų, išskyrus  $\beta$ -karoteno, koncentracijų vidurkiai skirtingo amžiaus tiriamųjų grupėse. Mažiausia pavienių karotenoidų ir bendra jų vidutinė koncentracija nustatyta vyresnių nei 65 metų asmenų grupėje.  $\beta$ -kriptoksantino koncentracijos vidurkis minėtoje grupėje buvo net 55 % mažesnis nei vaikų grupėje (**13 lent.**).

**13 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas įvairiose amžiaus grupėse

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Amžiaus grupės (m.)				ANOVA (p reikšmė)
		$\leq 18$ n=193	19–44 n=297	45–65 n=214	> 65 n=22	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,35	0,29	0,28	0,25	0,019*
	SN	0,09	0,13	0,15	0,20	
$\beta$ -kriptoksantinas	Vidurkis	0,20	0,14	0,12	0,09	0,000*
	SN	0,25	0,11	0,13	0,07	
$\alpha$ -karotenas	Vidurkis	0,14	0,16	0,16	0,10	0,001*
	SN	0,11	0,13	0,13	0,07	
$\beta$ -karotenas	Vidurkis	0,53	0,52	0,53	0,38	0,261
	SN	0,35	0,35	0,42	0,17	
Likopenas	Vidurkis	0,49	0,64	0,53	0,34	0,000*
	SN	0,26	0,30	0,31	0,23	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,56	1,68	1,57	1,22	0,004*
	SN	0,69	0,71	0,77	0,45	

\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

Palyginus tirtų karotenoidų koncentracijas tarp atskirų amžiaus grupių, matomi itin dideli statistiškai reikšmingi likopeno,  $\alpha$ -karoteno ir  $\beta$ -kriptoksantino koncentracijos vidurkių skirtumai (**14 lent.**).

**14 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai tarp amžiaus grupių (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

	Liuteinas + zeaksantinas				$\beta$ -karotenas			
	$\leq 18$ m.	19– 44 m.	45– 65 m.	>65 m.	$\leq 18$ m.	19– 44 m.	45– 65 m.	>65 m.
$\leq 18$ m.		0,154	1,000	0,044	$\leq 18$ m.		1,000	0,462
19–44 m.	0,154		1,000	0,434	19–44 m.	1,000		1,000
45–65 m.	1,000	1,000		0,178	45–65 m.	1,000	1,000	
> 65 m.	0,044	0,434	0,178		>65 m.	0,462	1,000	1,000

<b>β-kriptoksantinas</b>					<b>Likopenas</b>				
	≤18 m.	19–44 m.	45–65 m.	>65 m.		≤18 m.	19–44 m.	45–65 m.	>65 m.
≤18 m.		0,002	0,000	0,000	≤18 m.		0,000	1,000	0,001
19–44 m.	0,002		0,088	0,015	19–44 m.	0,000		0,000	0,000
45–65 m.	0,000	0,088		0,256	45–65 m.	1,000	0,000		0,000
>65 m.	0,000	0,015	0,256		>65 m.	0,001	0,000	0,000	
<b>α-karotenas</b>					<b>Bendra karotenoidų koncentracija</b>				
	≤18 m.	19–44 m.	45–65 m.	>65 m.		≤18 m.	19–44 m.	45–65 m.	>65 m.
≤18 m.		0,034	0,042	0,351	≤18 m.		0,473	1,000	0,095
19–44 m.	0,034		1,000	0,012	19–44 m.	0,473		0,151	0,009
45–65 m.	0,042	1,000		0,012	45–65 m.	1,000	0,151		0,144
>65 m.	0,351	0,012	0,012		>65 m.	0,095	0,009	0,144	

■ - statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

**15 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos (μmol/l) kraujo serume palyginimas tarp kūno masės indekso grupių

Karotenoidų koncentracija (μmol/l)		KMI kategorija				ANOVA (p reikšmė)
		Per mažas svoris	Normalus svoris	Antsvoris	Nutukimas	
		KMI				
		<18,5	18,5–24,9	25–29,9	≥30	
		n=65	n=280	n=167	n=214	
Liuteinas + zeaksantinas	V	0,27	0,28	0,29	0,27	0,782
	SN	0,09	0,13	0,15	0,13	
β-kriptoksantinas	V	0,21	0,17	0,13	0,12	0,000*
	SN	0,20	0,20	0,11	0,12	
α-karotenas	V	0,12	0,17	0,16	0,14	0,008*
	SN	0,09	0,13	0,12	0,11	
β-karotenas	V	0,56	0,56	0,55	0,44	0,000*
	SN	0,38	0,37	0,40	0,33	
Likopenas	V	0,54	0,57	0,59	0,47	0,012*
	SN	0,25	0,27	0,33	0,32	
Bendra koncentracija	V	1,58	1,68	1,66	1,46	0,002*
	SN	0,70	0,73	0,75	0,68	

\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius



Nustatyti visų tirtų pavienių kraujo serumo karotenoidų, išskyrus liuteiną ir zeaksantiną, statistiškai reikšmingi ( $p < 0,05$ ) koncentracijų skirtumai tarp atskirų KMI kategorijų (**15 lent.**).

Mažesnė bendra karotenoidų,  $\beta$ -karoteno ir  $\beta$ -kriptoksantino koncentracija rasta nutukusių asmenų grupėje, palyginti su normalaus svorio ar antsvorį turinčiais tiriamaisiais; nutukusiųjų grupėje nustatyta mažesnė  $\alpha$ -karoteno koncentracija nei normalios kūno masės asmenų grupėje (**16 lent.**).

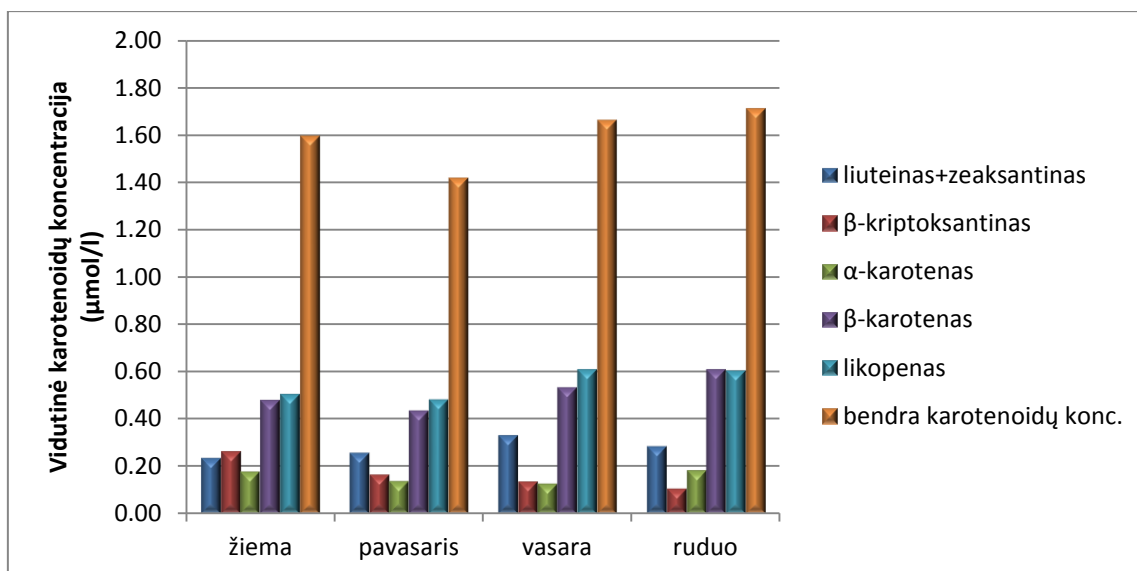
**16 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai tarp KMI kategorijų ( $p$  reikšmės (Bonferonio kriterijus))

Liuteinas + zeaksantinas					$\beta$ -karotenas				
KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$	KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$
<18,5		1,000	1,000	1,000	<18,5		1,000	1,000	0,005
18,5–24,9	1,000		1,000	1,000	18,5–24,9	1,000		1,000	0,000
25–29,9	1,000	1,000		1,000	25–29,9	1,000	1,000		0,005
$\geq 30$	1,000	1,000	1,000		$\geq 30$	0,005	0,000	0,005	
$\beta$ -kriptoksantinas					Likopenas				
KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$	KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$
<18,5		0,452	0,002	0,000	<18,5		0,058	0,099	1,000
18,5–24,9	0,452		0,019	0,000	18,5–24,9	0,058		1,000	0,142
25–29,9	0,002	0,019		1,000	25–29,9	0,099	1,000		0,318
$\geq 30$	0,000	0,000	1,000		$\geq 30$	1,000	0,142	0,318	
$\alpha$ -karotenas					Bendra karotenoidų koncentracija				
KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$	KMI	<18,5	18,5–24,9	25–29,9	$\geq 30$
<18,5		0,101	0,095	1,000	<18,5		1,000	1,000	0,562
18,5–24,9	0,101		1,000	0,038	18,5–24,9	1,000		1,000	0,001
25–29,9	0,095	1,000		0,101	25–29,9	1,000	1,000		0,031
$\geq 30$	1,000	0,038	0,101		$\geq 30$	0,562	0,001	0,031	

– statistiškai reikšmingas skirtumas ( $p$  reikšmė  $< 0,05$ )

Bene didžiausi karotenoidų kiekio skirtumai nustatyti įvairiais metų laikais: visų karotenoidų vidutinės koncentracijos statistiškai reikšmingai skyrėsi ( $p < 0,0000$ ) (**17 lent.**). Mažiausias bendros karotenoidų koncentracijos vidurkis

buvo pavasarį ( $1,42 \pm 0,67 \mu\text{mol/l}$ ), didžiausias – rudenį ( $1,72 \pm 0,73 \mu\text{mol/l}$ ) (12 pav.).



12 pav. Karotenoidų koncentracijų vidurkiai ( $\mu\text{mol/l}$ ) įvairiais metų laikais

17 lentelė. Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas skirtingais metų laikais

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Metų laikas				ANOVA (p reikšmė)
		žiema n=101	pavasaris n=205	vasara n=172	ruduo n=248	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,23	0,25	0,33	0,28	0,000*
	SN	0,12	0,12	0,14	0,13	
β-kriptoksantinas	Vidurkis	0,26	0,16	0,13	0,10	0,000*
	SN	0,31	0,14	0,11	0,07	
α-karotenas	Vidurkis	0,17	0,14	0,12	0,18	0,000*
	SN	0,16	0,11	0,09	0,12	
β-karotenas	Vidurkis	0,48	0,43	0,53	0,61	0,000*
	SN	0,34	0,33	0,35	0,40	
Likopenas	Vidurkis	0,51	0,48	0,61	0,60	0,000*
	SN	0,28	0,29	0,32	0,29	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,60	1,42	1,67	1,72	0,000*
	SN	0,82	0,67	0,67	0,73	

\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

**18 lentelėje** nurodytos p reikšmės statistiškai reikšmingiems karotenoidų koncentracijų vidurkių skirtumams tiriamųjų grupėse atskirais metų laikais.

**18 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai atskirais metų laikais (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

<b>Liuteinas + zeaksantinas</b>					<b>β-karotenas</b>				
	žiema	pavasaris	vasara	ruduo		žiema	pavasaris	vasara	ruduo
žiema		0,743	0,000	0,003	žiema		0,398	0,988	0,013
pavasaris	0,743		0,000	0,107	pavasaris	0,398		0,001	0,000
vasara	0,000	0,000		0,001	vasara	0,988	0,001		0,349
ruduo	0,003	0,107	0,001		ruduo	0,013	0,000	0,349	
<b>β-kriptoksantinas</b>					<b>Likopenas</b>				
	žiema	pavasaris	vasara	ruduo		žiema	pavasaris	vasara	ruduo
žiema		0,000	0,000	0,000	žiema		1,000	0,203	0,027
pavasaris	0,000		0,283	0,000	pavasaris	1,000		0,000	0,000
vasara	0,000	0,283		0,070	vasara	0,203	0,000		1,000
ruduo	0,000	0,000	0,070		ruduo	0,027	0,000	1,000	
<b>α-karotenas</b>					<b>Bendra karotenoidų koncentracija</b>				
	žiema	pavasaris	vasara	ruduo		žiema	pavasaris	vasara	ruduo
žiema		0,025	0,004	1,000	žiema		0,160	1,000	0,574
pavasaris	0,025		1,000	0,000	pavasaris	0,160		0,001	0,000
vasara	0,004	1,000		0,000	vasara	1,000	0,001		1,000
ruduo	1,000	0,000	0,000		ruduo	0,574	0,000	1,000	

– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

Tyrimo rezultatai parodė, kad įvairaus fizinio aktyvumo grupėse statistiškai reikšmingai ( $p < 0,02$ ) skyrėsi β-karoteno, likopeno bei bendros karotenoidų koncentracijų vidurkiai – mažiausi jie buvo tų tiriamųjų, kurie laisvalaikį skiria sunkioms treniruotėms bei dalyvavimui sporto varžybose (**19 lent.**).

**19 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas asmenų grupėse, besiskiriančiose fiziniu aktyvumu laisvalaikiu

Karotenoidų koncentracija (µmol/l)		Fizinis aktyvumas (laisvalaikiu)				ANOVA (p reikšmė)
		1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	
		n=220	n=342	n=97	n=23	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,27	0,28	0,29	0,25	0,263
	SN	0,14	0,12	0,15	0,11	
β-kriptoksantinas	Vidurkis	0,13	0,16	0,16	0,15	0,073
	SN	0,12	0,18	0,19	0,09	
α-karotenas	Vidurkis	0,15	0,16	0,15	0,14	0,137
	SN	0,13	0,12	0,11	0,13	
β-karotenas	Vidurkis	0,53	0,56	0,54	0,51	0,005*
	SN	0,36	0,37	0,34	0,33	
Likopenas	Vidurkis	0,53	0,58	0,58	0,51	0,026*
	SN	0,30	0,30	0,29	0,25	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,53	1,69	1,67	1,52	0,002*
	SN	0,73	0,71	0,69	0,65	

\*- statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

Nustatyti reikšmingi β-karoteno, likopeno ir bendros karotenoidų koncentracijos vidurkio skirtumai tarp mažiausio (1 grupės) ir saikingo (2 grupės) fizinio aktyvumo grupių tiriamųjų (**20 lentelė**).

**20 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai tarp tiriamųjų grupių, besiskiriančių fiziniu aktyvumu laisvalaikiu (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

Liuteinas+zeaksantinas					β-karotenas				
Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		0,554	1,000	1,000	1 grupė		0,004	0,096	1,000
2 grupė	0,554		1,000	1,000	2 grupė	0,004		1,000	1,000
3 grupė	1,000	1,000		1,000	3 grupė	0,096	1,000		1,000
4 grupė	1,000	1,000	1,000		4 grupė	1,000	1,000	1,000	
β-kriptoksantinas					Likopenas				
Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		0,073	1,000	0,972	1 grupė		0,035	0,137	1,000
2 grupė	0,073		1,000	1,000	2 grupė	0,035			1,000
3 grupė	1,000	1,000		1,000	3 grupė	0,137	1,000	1,000	1,000
4 grupė	0,972	1,000	1,000		4 grupė	1,000	1,000	1,000	

$\alpha$ -karotenai					Bendra karotenoidų koncentracija				
Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas laisvalaikiu	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		0,252	1,000	1,000	1 grupė		0,002	0,110	1,000
2 grupė	0,252		1,000	0,882	2 grupė	0,002		1,000	1,000
3 grupė	1,000	1,000		1,000	3 grupė	0,110	1,000		1,000
4 grupė	1,000	0,882	1,000		4 grupė	1,000	1,000	1,000	

– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

Siekiant nustatyti nuo fizinio aktyvumo darbe priklausomus pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos kraujo serume skirtumus, į tiriamųjų imtį nebuvo įtraukti jaunesni nei 18 metų asmenys bei asmenys, nepriskiriantys savo fizinio aktyvumo darbe nė vienai iš išvardytųjų grupių. Tyrimo duomenys parodė, jog  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos vidurkiai statistiškai reikšmingai skyrėsi tarp atskirų fizinio aktyvumo grupių darbe (p=0,015) – fiziškai aktyviausių asmenų  $\beta$ -karoteno koncentracijos vidurkis buvo mažiausias (**21 lent.**).

**21 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas asmenų grupėse, besiskiriančiose fiziniu aktyvumu darbe

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Fizinis aktyvumas (darbe)				ANOVA (p reikšmė)
		1 grupė n=162	2 grupė n=189	3 grupė n=90	4 grupė n=56	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,27	0,30	0,30	0,26	0,074
	SN	0,12	0,15	0,14	0,14	
$\beta$ -kriptoksantinas	Vidurkis	0,13	0,15	0,13	0,12	0,068
	SN	0,10	0,13	0,10	0,12	
$\alpha$ -karotenai	Vidurkis	0,17	0,18	0,15	0,13	0,110
	SN	0,13	0,14	0,10	0,08	
$\beta$ -karotenai	Vidurkis	0,56	0,59	0,43	0,40	0,003*
	SN	0,41	0,43	0,24	0,23	
Likopenai	Vidurkis	0,59	0,60	0,58	0,55	0,657
	SN	0,30	0,32	0,29	0,31	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,66	1,75	1,53	1,41	0,028*
	SN	0,73	0,84	0,52	0,58	

\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

Lyginant karotenoidų koncentracijas tarp atskirų fizinio aktyvumo grupių, statistiškai reikšmingas  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos vidurkių skirtumas nustatytas sunkiausiai fiziškai dirbančių ir lengvo (1 grupė) bei saikingo (2 grupė) fizinio aktyvumo tiriamųjų grupėse (**22 lent.**).

**22 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai tarp tiriamųjų grupių, besiskiriančių fiziniu aktyvumu darbe (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

Liuteinas + zeaksantinas					$\beta$ -karotenas				
Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		1,000	0,488	1,000	1 grupė		1,000	0,402	0,034
2 grupė	1,000		1,000	0,287	2 grupė	1,000		0,094	0,006
3 grupė	0,488	1,000		0,145	3 grupė	0,402	0,094		1,000
4 grupė	1,000	0,287	0,145		4 grupė	0,034	0,006	1,000	
$\beta$ -kriptoksantinas					Likopenas				
Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		1,000	1,000	0,121	1 grupė		1,000	1,000	1,000
2 grupė	1,000		1,000	0,056	2 grupė	1,000		1,000	1,000
3 grupė	1,000	1,000		0,476	3 grupė	1,000	1,000		1,000
4 grupė	0,121	0,056	0,476		4 grupė	1,000	1,000	1,000	
$\alpha$ -karotenas					Bendra karotenoidų koncentracija				
Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė	Judėjimas darbe	1 grupė	2 grupė	3 grupė	4 grupė
1 grupė		1,000	1,000	0,422	1 grupė		1,000	1,000	0,120
2 grupė	1,000		0,753	0,182	2 grupė	1,000		1,000	0,020
3 grupė	1,000	0,753		1,000	3 grupė	1,000	1,000		0,594
4 grupė	0,422	0,182	1,000		4 grupė	0,120	0,020	0,594	

– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

Visų tirtų serumo karotenų koncentracijos statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) skyrėsi rūkalių ir nerūkančiųjų grupėse (**23 lent.**).


**23 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas skirtingus rūkymo įpročius turinčių asmenų grupėse

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Rūkymas				ANOVA (p reikšmė)
		kasdien	kartais	ne	anksčiau	
		n=77	n=52	n=50 0	n=76	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,26	0,28	0,28	0,29	0,188
	SN	0,14	0,16	0,13	0,11	
$\beta$ -kriptoksantinas	Vidurkis	0,10	0,13	0,16	0,15	0,000*
	SN	0,08	0,12	0,18	0,13	
$\alpha$ -karotenas	Vidurkis	0,12	0,16	0,16	0,16	0,009*
	SN	0,08	0,11	0,13	0,56	
$\beta$ -karotenas	Vidurkis	0,35	0,54	0,56	0,44	0,000*
	SN	0,26	0,39	0,38	0,31	
Likopenas	Vidurkis	0,54	0,65	0,54	0,63	0,018
	SN	0,29	0,28	0,29	0,36	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,32	1,69	1,65	1,60	0,001*
	SN	0,53	0,66	0,75	0,69	

\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05) SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

**24 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai rūkančių ir nerūkančių tiriamųjų grupėse (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

Liuteinas + zeaksantinas					$\beta$ -karotenas				
Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau	Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau
kasdien		1,000	0,438	0,245	kasdien		0,001	0,000	0,126
kartais	1,000		1,000	1,000	kartais	0,001		1,000	0,435
ne	0,438	1,000		1,000	ne	0,000	1,000		0,033
anksčiau	0,245	1,000	1,000		anksčiau	0,126	0,435	0,033	
$\beta$ -kriptoksantinas					Likopenas				
Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau	Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau
kasdien		0,084	0,000	0,003	kasdien		0,066	1,000	0,782
kartais	0,084		1,000	1,000	kartais	0,066		0,053	1,000
ne	0,000	1,000		1,000	ne	1,000	0,053		0,707
anksčiau	0,003	1,000	1,000		anksčiau	0,782	1,000	0,707	
$\alpha$ -karotenas					Bendra karotenoidų koncentracija				
Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau	Rūkymas	kasdien	kartais	ne	anksčiau
kasdien		0,016	0,017	0,094	kasdien		0,006	0,001	0,057
kartais	0,016		1,000	1,000	kartais	0,006		1,000	1,000
ne	0,017	1,000		1,000	ne	0,001	1,000		1,000
anksčiau	0,094	1,000	1,000		anksčiau	0,057	1,000	1,000	

 - statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

Aktyviai rūkančių asmenų kraujyje cirkuliuojančio  $\alpha$ -karoteno koncentracija 25 %, o  $\beta$ -karoteno ir  $\beta$ -kriptoksantino – net 37,5 % mažesnė lyginant su nerūkančiųjų.  $\beta$ -kriptoksantino koncentracija buvo 1,5 karto mažesnė ir buvusių rūkalių grupėje lyginant su niekada nerūkiusiais tiriamaisiais. Provitamino A savybėmis nepasižyminčių karotenoidų – likopeno, liuteino ir zeaksantino – koncentracija rūkančių ir nerūkančių tiriamųjų kraujyje statistiškai reikšmingai nesiskyrė (**24 lent.**).

Skirtingo alkoholio vartojimo įpročius turinčių asmenų grupėse statistiškai reikšmingai ( $p < 0,002$ ) skyrėsi  $\alpha$ -karoteno, likopeno ir  $\beta$ -kriptoksantino koncentracijų vidurkiai (**25 lent.**).

**25 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos ( $\mu\text{mol/l}$ ) kraujo serume palyginimas skirtingus alkoholio vartojimo įpročius turinčių asmenų grupėse

Karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )		Alkoholio vartojimas				ANOVA (p reikšmė)
		taip, dažnai	taip, kai kada	ne	anksčiau vartojau, dabar nebevartuju	
		n=27	n=432	n=221	n=27	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,27	0,28	0,26	0,32	0,127
	SN	0,13	0,13	0,12	0,14	
$\beta$ -kriptoksantinas	Vidurkis	0,10	0,14	0,18	0,13	0,003*
	SN	0,07	0,12	0,23	0,10	
$\alpha$ -karotenas	Vidurkis	0,15	0,16	0,14	0,15	0,002*
	SN	0,14	0,12	0,12	0,12	
$\beta$ -karotenas	Vidurkis	0,43	0,52	0,54	0,51	0,108
	SN	0,34	0,37	0,38	0,44	
Likopenas	Vidurkis	0,48	0,60	0,67	0,53	0,000*
	SN	0,38	0,30	0,26	0,36	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,54	1,65	1,56	1,57	0,195
	SN	0,84	0,72	0,71	0,85	


\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė  $< 0,05$ ), SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius



Alkoholio nevartojančių asmenų  $\beta$ -kriptoksantino koncentracija serume kone dvigubai (1,8), o likopeno – 1,4 karto viršijo minėtų junginių koncentracijas dažnai alkoholi vartojančiųjų grupėje.  $\alpha$ -karoteno koncentracija buvo šiek tiek (12,5%) didesnė kai kada alkoholi pavartojančių nei visai jo nevartojančių tiriamųjų serume (26 lent.).

**26 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų skirtumai skirtingus alkoholio vartojimo įpročius turinčių asmenų grupėse (p reikšmės (Bonferonio kriterijus))

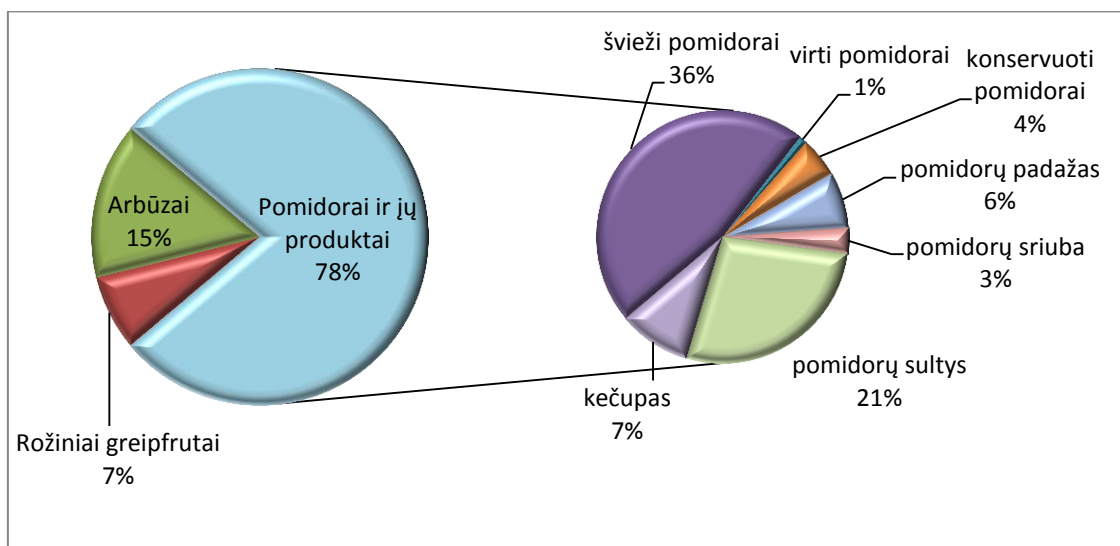
Liuteinas+zeaksantinas					$\beta$ -karotenas				
Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau	Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau
kasdien		1,000	1,000	1,000	kasdien		0,394	0,169	1,000
kartais	1,000		0,389	1,000	kartais	0,394		1,000	1,000
ne	1,000	0,389		0,308	ne	0,169	1,000		1,000
anksčiau	1,000	1,000	0,308		anksčiau	1,000	1,000	1,000	
$\beta$ -kriptoksantinas					Likopenas				
Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau	Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau
kasdien		0,123	0,008	1,000	kasdien		1,000	0,066	0,258
kartais	0,123		0,119	1,000	kartais	1,000		0,000	0,177
ne	0,008	0,119		0,476	ne	0,066	0,000		1,000
anksčiau	1,000	1,000	0,476		anksčiau	0,258	0,177	1,000	
$\alpha$ -karotenas					Bendra karotenoidų koncentracija				
Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau	Alkoholio vartojimas	dažnai	kartais	ne	anksčiau
kasdien		1,000	1,000	1,000	kasdien		1,000	1,000	1,000
kartais	1,000		0,001	1,000	kartais	1,000		0,455	1,000
ne	1,000	0,001		1,000	ne	1,000	0,455		1,000
anksčiau	1,000	1,000	1,000		anksčiau	1,000	1,000	1,000	

 - statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

### 4.3. Likopeno suvartojimo tyrimas ir reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką

Tiriamosios grupės asmenų mitybos analizė parodė, jog pagrindiniai likopeno šaltiniai yra pomidorai ir jų produktai (78 %), arbūzai (15 %), rožiniai greipfrutai (7 %). Daugiausia likopeno – 2,09 [1,85; 2,33] mg/p, t. y. 36 % – gaunama vartojant šviežius pomidorus, kurių per parą vidutiniškai suvalgoma 69,29 [61,47; 77,11] g. Taip pat nemažai minėto antioksidanto gaunama geriant pomidorų sultis (1,23 [0,84; 1,62] mg/p, t. y. 21 %) (13 pav., 27 lent.).

Apskaičiuota, kad vieno asmens per parą suvartojamo likopeno vidurkis yra 5,77 [5,09; 6,45] mg; mediana – 2,36 mg; tai yra 0,08 miligramo kilogramui kūno masės likopeno per parą.



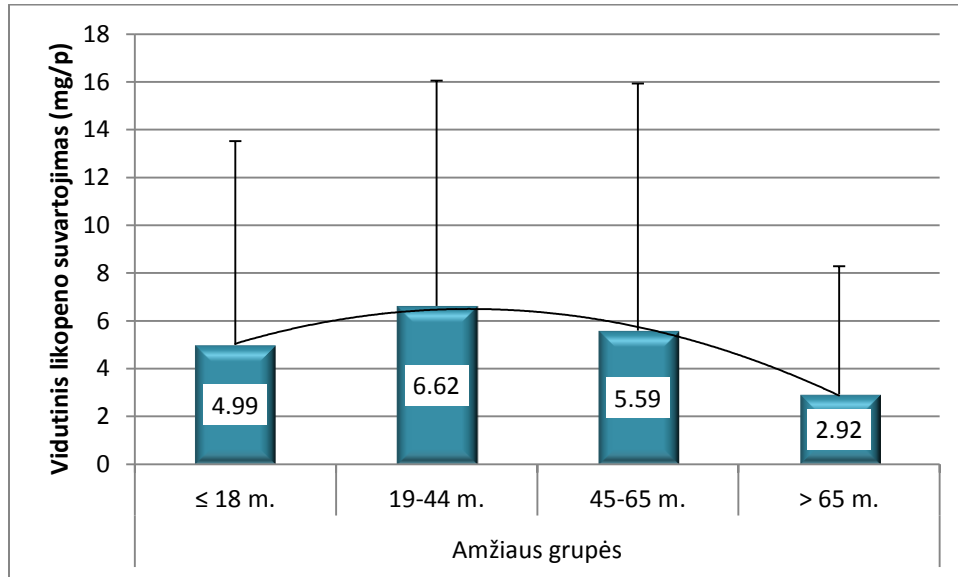
13 pav. Vidutinis su įvairiais maisto produktais per parą suvartojamas likopeno kiekis, išreikštas procentais

**27 lentelė.** Maisto produktų, kuriuose yra likopeno, vidutinis suvartojimas (g/p) ir vidutinis su įvairiais maisto produktais per parą suvartojamas likopeno kiekis (mg/p)

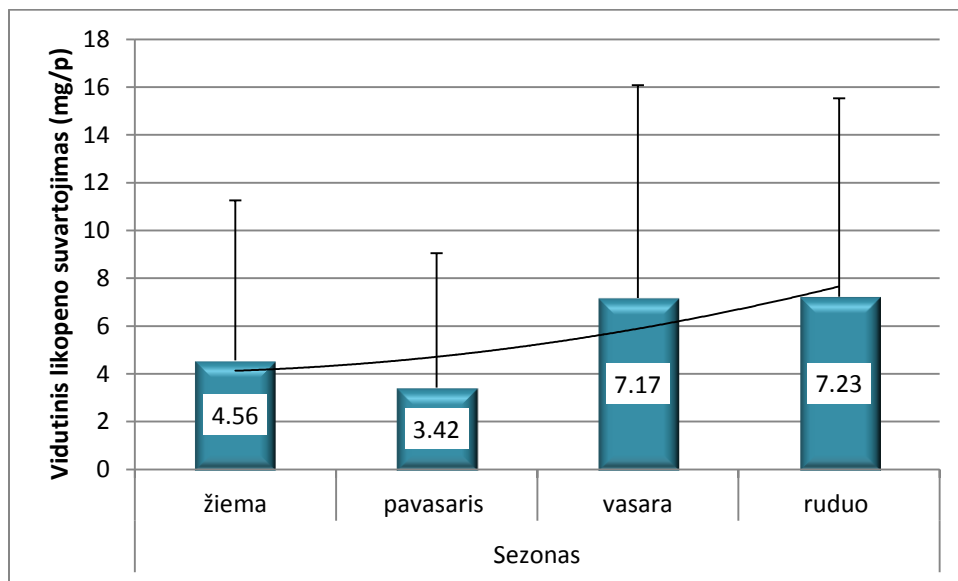
Maisto produktas	Vidutinis suvartojimas (g/p)			Vidutinis likopeno suvartojimas (mg/p)		
	Vidurkis	95 % vidurkio PI		Vidurkis	95 % vidurkio PI	
Pomidorai ir jų produktai:	100,32	90,12	110,53	4,47	3,94	5,00
švieži pomidorai	69,29	61,47	77,11	2,09	1,85	2,33
virti pomidorai	1,24	0,36	2,12	0,05	0,01	0,08
konservuoti pomidorai	4,55	3,02	6,09	0,23	0,15	0,30
pomidorų padažas	5,26	4,54	5,99	0,33	0,28	0,37
pomidorų sriuba	1,84	0,52	3,16	0,15	0,04	0,25
pomidorų sultys	15,38	10,52	20,24	1,23	0,84	1,62
kečupas	3,35	2,77	3,93	0,41	0,34	0,49
Abrikosai (džiovinti, švieži, konservuoti)	4,00	2,04	5,96	0,005	0,003	0,01
Rožiniai greipfrutai (švieži)	12,56	8,66	16,47	0,41	0,28	0,55
Arbūzai (švieži)	21,69	12,15	31,23	0,87	0,49	1,25

Moterys šio antioksidanto su maistu gauna vidutiniškai 5,97 [4,85; 6,29] mg/p – statistiškai reikšmingai ( $p=0,000$ ) daugiau nei vyrai (5,57 [5,33; 6,62] mg/p). Statistiškai reikšmingai skiriasi ( $p=0,000$ ) ir skirtingų amžiaus grupių tiriamųjų likopeno suvartojimo rodiklių skirstiniai. Mažiausiai likopeno su maistu gauna vyresni nei 65 metų asmenys (2,92 [2,53; 3,31] mg/p) (**14 pav.**).

Likopeno suvartojimui įtakos turi sezoniškumas (**15 pav.**) – rudenį su maistu jo gaunama 2,1 karto daugiau nei pavasarį. Kaimo ir miesto gyventojų likopeno suvartojimo rodikliai (atitinkamai 5,52 [5,22; 6,62] ir 5,92 [4,87; 6,17] mg/p) statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Lyginant vidutinį likopeno suvartojimą ŠKL sergančių ir šiomis ligomis nesergančių asmenų grupėse, statistiškai reikšmingo skirtumo nerasta ( $p=0,393$ ). Likopeno suvartojimo rodiklių skirtumai minėtose grupėse pateikiami **28 lentelėje**.



**14 pav.** Likopeno suvartojimas įvairiose amžiaus grupėse. Stulpelinėje diagramoje pateiktas likopeno suvartojimo vidurkis (mg/p) kiekvienoje amžiaus grupėje



**15 pav.** Likopeno suvartojimas įvairiais metų laikais. Stulpelinėje diagramoje pateiktas likopeno suvartojimo vidurkis (mg/p)

**28 lentelė.** Sezoniškumo, amžiaus, lyties ir gyvenamosios vietos bei sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis lemiami vidutinio likopeno suvartojimo (mg/p) skirtumai

Rodiklis		n	Vidutinis likopeno suvartojimas (mg/parą)				p reikšmė*
			Mediana	Vidurkis	Vidurkio 95 % PI		
Lytis	vyrai	365	1,80	5,57	4,85	6,29	0,01**
	moterys	361	3,03	5,97	5,33	6,62	
Amžiaus grupės	≤18 m.	193	1,80	4,99	4,37	5,61	0,000**
	19–44 m.	297	3,31	6,62	5,93	7,31	
	45–65 m.	214	1,86	5,59	4,84	6,34	
	>65 m.	22	0,16	2,92	2,53	3,31	
Sezonas	žiema	101	1,72	4,56	4,07	5,05	0,000**
	pavasaris	205	1,17	3,42	3,02	3,83	
	vasara	172	4,00	7,17	6,53	7,82	
	ruduo	248	3,00	7,23	6,33	8,12	
Gyvenamoji vieta	miestas	484	2,42	5,92	5,22	6,62	0,393
	kaimas	239	2,30	5,52	4,87	6,17	
ŠKL	neserga	316	2,50	5,89	4,91	6,87	0,075
	serga	50	1,67	4,29	3,59	4,99	

\* *Mano ir Vitnio U* arba *Kruskalo ir Voliso* kriterijus; \*\* – statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,01), n – tiriamųjų skaičius

Likopeno suvartojimo ryšys su įvairiais biocheminiais kraujo rodikliais pateikiamas **29 lentelėje**. Nustatyta statistiškai reikšminga teigiama koreliacija tarp suvartojamo likopeno kiekio ir padidėjusios bendrojo cholesterolio ir DTL cholesterolio koncentracijos (atitinkamai  $r=0,095$ ;  $p<0,011$  ir  $r=0,084$ ;  $p<0,024$ ). Taip pat nustatytas statistiškai reikšmingas tiesioginis ryšys tarp liuteino, zeaksantino, likopeno,  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karoteno,  $\beta$ - kriptoksantino bei bendros serumo karotenoidų koncentracijos ir likopeno suvartojimo.

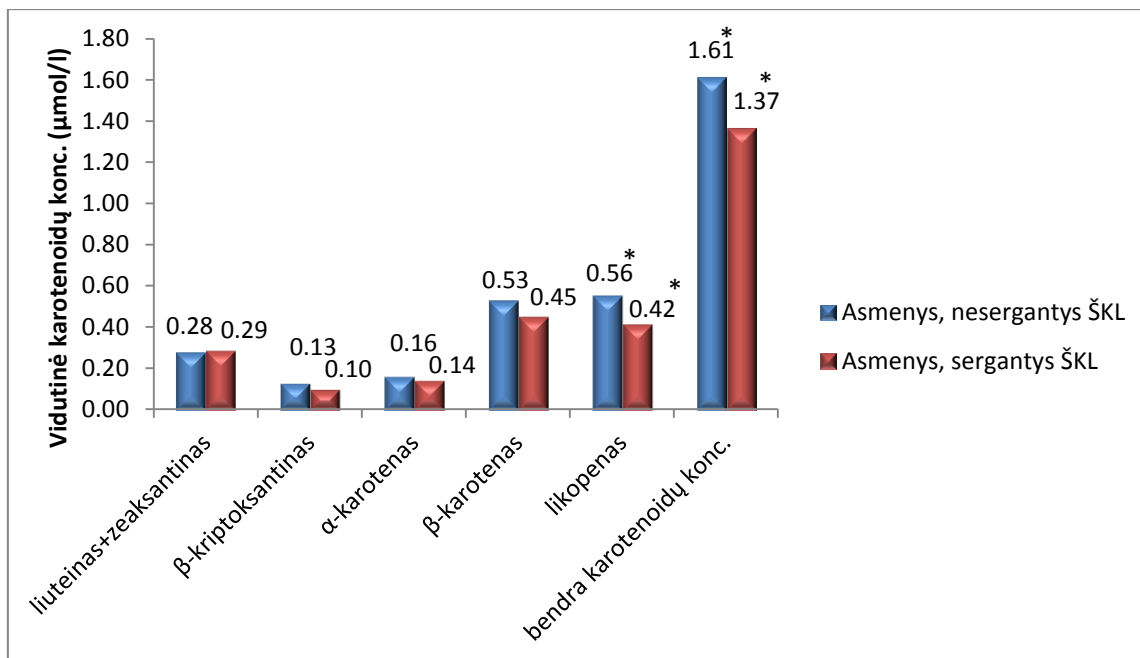
**29 lentelė.** Likopeno suvartojimo ryšys su įvairiais biocheminiais kraujo rodikliais

Rodiklis	Spirmeno koreliacijos koeficientas (r)	p reikšmė
	n=736	
Gliukozė (mmol/l)	0,029	0,428
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	0,095	0,011*
Triacilgliceroliai (mmol/l)	0,061	0,103
DTL cholesterolis (mmol/l)	0,084	0,024*
MTL cholesterolis (mmol/l)	0,062	0,097
hsCRB (mg/l)	0,051	0,170
Apoproteinas A-I (g/l)	0,069	0,068
Apoproteinas B (g/l)	0,030	0,428
Lipoproteinas a (g/l)	0,096	0,091
Liuteinas+ zeaksantinas (μmol/l)	0,127	0,001**
β-kriptoksantinas (μmol/l)	0,004	0,921
α-karotenas (μmol/l)	0,077	0,039*
β-karotenas (μmol/l)	0,144	0,000**
Likopenas (μmol/l)	0,361	0,000**
Bendra karotenoidų koncentracija (μmol/l)	0,240	0,000**

\*– statistiškai reikšminga koreliacija (\*p reikšmė <0,05) (\*\*p reikšmė <0,01), n – tiriamųjų skaičius

#### **4.4. Kraujo serumo karotenoidų kiekio reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką**

Nustatyta, jog likopeno ir bendros karotenoidų koncentracijos vidurkiai statistiškai reikšmingai mažesni ŠKL sergančių tiriamųjų grupėje, palyginti su šiomis ligomis nesergančiais asmenimis (**30 lent., 16 pav.**).



\*– statistiškai reikšmingas skirtumas (p reikšmė <0,05)

**16 pav.** Vidutinė serumo karotenoidų koncentracija (µmol/l) sergančių širdies ir kraujagyslių ligomis bei šiomis ligomis nesergančių tiriamųjų grupėse. Stulpelinėje diagramoje pateiktas karotenoidų koncentracijos vidurkis (µmol/l)

Nustačius minėtų junginių koncentracijų skirtumus, įvertinta rizika sirgti ŠKL: ji 2,6 karto didesnė asmenims, kurių bendra serumo karotenoidų koncentracija yra mažiausia (žemiausias kvartilis), palyginti su didžiausią koncentraciją (aukščiausias kvartilis) turinčių asmenų grupės rizika. Likopeno atveju ši rizika padidėja beveik iki 3 kartų (**31 lent.**).

**30 lentelė.** Pavienių karotenoidų ir bendros jų vidutinės koncentracijos (µmol/l) kraujo serume palyginimas sergančių širdies ir kraujagyslių ligomis bei šiomis ligomis nesergančių tiriamųjų grupėse

Karotenoidų koncentracija (µmol/l)		Nesergantys ŠKL	Sergantys ŠKL	ANOVA (p reikšmė)
		n=316	n=50	
Liuteinas + zeaksantinas	Vidurkis	0,28	0,29	0,871
	SN	0,14	0,18	
β-kriptoksantinas	Vidurkis	0,13	0,10	0,059
	SN	0,12	0,08	
α-karotenas	Vidurkis	0,16	0,14	0,118
	SN	0,12	0,14	
β-karotenas	Vidurkis	0,53	0,45	0,448
	SN	0,40	0,32	
Likopenas	Vidurkis	0,56	0,42	0,001*
	SN	0,30	0,24	
Bendra koncentracija	Vidurkis	1,61	1,37	0,03*
	SN	0,75	0,61	

SN – standartinis nuokrypis, n – tiriamųjų skaičius

**31 lentelė.** Rizika sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis atsižvelgiant į likopeno bei bendros serumo karotenoidų koncentracijos kvartilius

		Bendra karotenoidų konc. (µmol/l)		Likopeno konc. (µmol/l)	
Kvartiliai	n	ŠS	95 % PI	ŠS	95 % PI
Q1 (žemiausias)	93	2,63	1,09; 6,37	2,99	1,18; 7,57
Q2	90	2,08	0,83; 5,18	2,37	0,91; 6,11
Q3	93	0,97	0,35; 2,7	1,5	0,55; 4,13
Q4 (aukščiausias)	90	1		1	
p reikšmė		0,03		0,01	

n – tiriamųjų skaičius

Įvertinus ryšį su kraujo biocheminiais ŠKL rizikos rodikliais, nustatyta, kad tirtų pavienių karotenoidų koncentracijos reikšmingai koreliavo su bendrojo cholesterolio ir DTL cholesterolio (išskyrus liuteiną ir zeaksantiną) koncentracija. Tik likopeno atveju nustatyta teigiama koreliacija su MTL cholesterolio



koncentracija. Nustatytas atvirkštinis ryšys tarp  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno,  $\beta$ -kriptoksantino ir bendros karotenoidų koncentracijos ir uždegimo žymens – didelio jautrumo C reaktyviojo baltymo kiekio. Taip pat teigiama koreliacija rasta ir tarp apolipoproteino A-I bei  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos (**32 lent.**).

**32 lentelė.** Karotenoidų koncentracijos ryšys su kraujo biocheminiais rodikliais

Biocheminis rodiklis	Vidutinė serumo karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ )					
	Luteinas + zeaksantinas	$\beta$ -kriptoksantinas	$\alpha$ -karotenas	$\beta$ -karotenas	Likopenas	Bendra karotenoidų konc.
	(r)- Spirmeno arba Pirsono koreliacijos koeficientas					
Gliukozė (mmol/l)	-0,040	0,023	-0,080	-0,104*	0,038	-0,046
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	0,172*	0,196**	0,123*	0,115*	0,182**	0,216**
TAG (mmol/l)	0,100	0,046	-0,072	-0,114*	0,157	0,024
DTL cholesterolis (mmol/l)	-0,013	0,105*	0,129*	0,160**	0,118*	0,124*
MTL cholesterolis (mmol/l)	0,18	0,164	0,147	0,151	0,154*	0,206
hsCRB (mg/l)	-0,017	-0,103*	-0,20**	-0,184**	-0,070	-0,150**
Apoproteinas A-I (g/l)	0,004	0,067	0,140**	0,127*	0,007	0,110*
Apoproteinas B (g/l)	0,12	0,189	0,006	-0,025	0,138	0,096
Lipoproteinas a (g/l)	0,026	0,018	0,111	,076	0,056	0,080

Statistiškai reikšminga koreliacija kai \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,005$

#### **4.5. Demografinių ir gyvenamosios veiksnų bei biocheminių kraujo rodiklių įtaka kraujo serumo karotenoidų koncentracijai**

Demografinių ir gyvenamosios veiksnų bei biocheminių kraujo rodiklių įtaka serumo karotenoidų kiekiui vertinta taikant daugialypės regresijos metodą. Veiksniai, statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) veikiantys pavienių ir bendrą karotenoidų koncentraciją, pateikiami **33 lentelėje**.

Lytis, amžius, sezonas ir rūkymo įpročiai turėjo reikšmingą įtaką bendram ir daugumos pavienių serumo karotenoidų kiekiui. Didelis fizinis aktyvumas tiek darbe, tiek laisvalaikiu siejamas su mažesne  $\beta$ -karoteno koncentracija. Didesnis su maistu gaunamo likopeno kiekis didina, o dažnas alkoholio vartojimas – mažina likopeno kiekį serume. Didėjant bendrojo cholesterolio koncentracijai, karotenoidų kiekis didėja, o uždegimo rodiklis *hsCRP* sietinas su sumažėjusia karotenoidų koncentracija kraujyje.

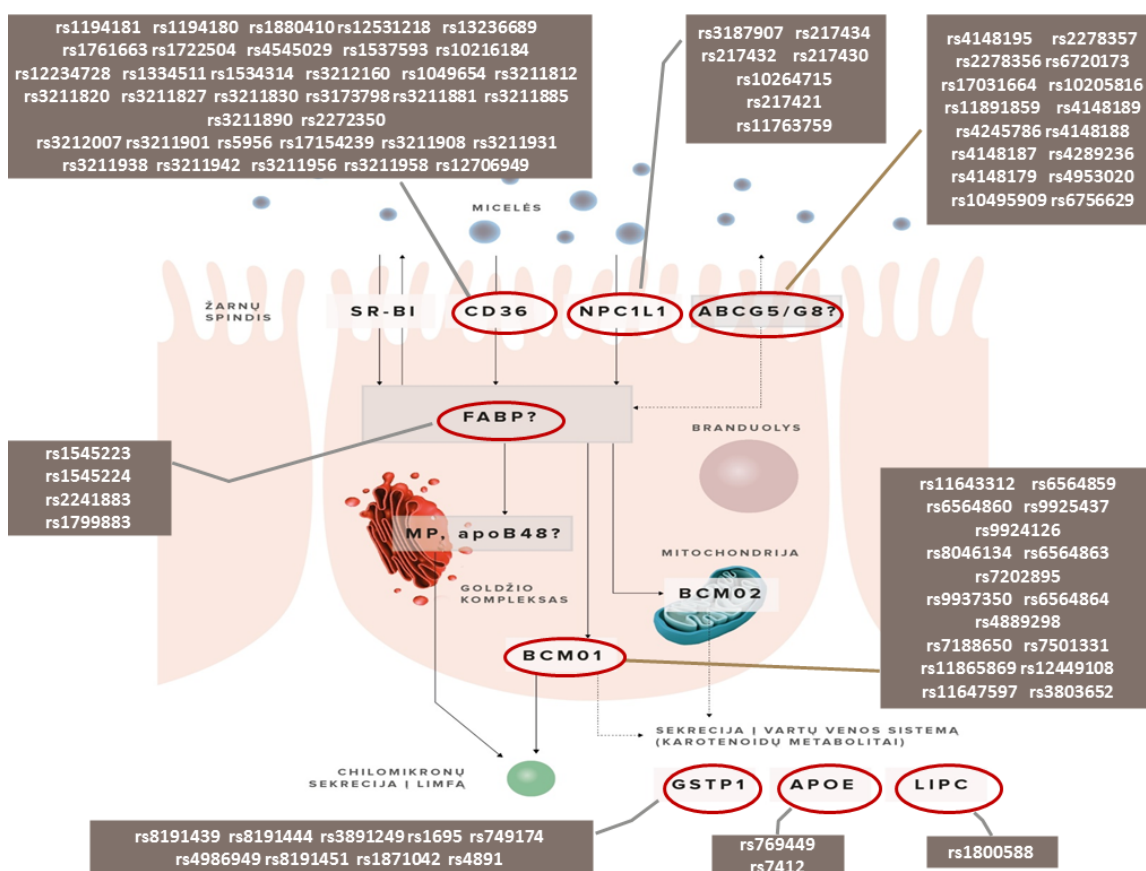
**33 lentelė.** Demografinių ir gyvensenos veiksnių bei biocheminių kraujo rodiklių įtaka serumo karotenoidų koncentracijai, taikant daugialypės regresijos metodą

	Liuteinas +zeaksantinas**			β-kriptoksantinas**			α-karotenas**			β-karotenas**			Likopenas**			Bendra karotenoidų koncentracija**		
	R <sup>2</sup> =0,201; p=0,000			R <sup>2</sup> =0,242; p=0,000			R <sup>2</sup> =0,170; p=0,000			R <sup>2</sup> =0,242; p=0,000			R <sup>2</sup> =0,219; p=0,000			R <sup>2</sup> =0,202; p=0,000		
	β	p	VIF	β	p	VIF	β	p	VIF	β	p	VIF	β	p	VIF	β	p	VIF
Sezonas*	0,123	0,003	1,013	-0,300	0,000	1,01							0,139	0,000	1,01	0,121	0,001	1,006
Lytis * (vyr./mot.)	0,106	0,014	1,108	0,189	0,000	1,020	0,196	0,000	1,12	0,169	0,000	1,06				0,174	0,000	1,019
Amžius (m.)				-0,330	0,000	1,388							-0,335	0,000	1,44	-0,228	0,000	1,442
Rūkymas*	-0,128	0,002	1,046	-0,104	0,007	1,044				-0,109	0,006	1,09				-0,108	0,002	1,036
KMI	-0,106	0,012	1,072							-0,415	0,000	6,71						
Bendrasis-C (mmol/l)	0,240	0,000	1,079	0,190	0,000	1,364	0,628	0,000	7,59	0,266	0,000	1,13				0,378	0,000	1,400
DTL-C (mmol/l)				0,120	0,006	1,132	-0,339	0,000	5,49	-0,14	0,004	1,66	0,306	0,000	1,37			
hsCRB (mg/l)				-0,075	0,042	1,043	-0,132	0,001	1,06	-0,14	0,008	1,96				-0,121	0,001	1,064
Apo A-I (g/l)							0,197	0,011	3,86									
TAG (mmol/l)							-0,117	0,024	1,73	0,641	0,000	7,32						
Alkoholio vartojimas*													-0,178	0,000	1,12			
Fizinis aktyvumas (darbe)*										-0,12	0,002	1,05						
Fizinis aktyvumas (laisvalaikiu)*										-0,102	0,01	1,12						
Vidutinis likopeno suvart. (mg/p)													0,199	0,000	1,02			

\*kategoriniai kintamieji į regresijos modelį įtraukti pakeičiant juos vienu arba keliais pseudokintamaisiais; \*\*modelyje naudoti logaritmuoti karotenoidų koncentracijų rodikliai. Pateikiami tik veiksniai, darantys statistiškai reikšmingą (p<0,05) įtaką pavienių karotenoidų ir bendrai karotenoidų koncentracijai

#### 4.6. Genomo žymenų sąsajų su kraujo serumo karotenoidų koncentracija tyrimas

Tyrimo metu siekta įvertinti serumo karotenoidų koncentracijų sąsajas ne vien su demografiniais, gyvenamos ar kitais nuo aplinkos priklausomais epidemiologiniais veiksniais, bet ir su genotipo lemiamomis individualiomis organizmo ypatybėmis: daug dėmesio buvo skirta baltymams, dalyvaujantiems karotenoidų metabolizme, ypač jų rezorbcijoje.



**17 pav.** Tyrimo metu analizuoti vieno nukleotido polimorfizmai APOE, BCMO1, NPC1L1, CD36, GSTP1, ABCG5, FABP1, FABP2 ir LIPC baltymus koduojančiuose genuose

Šiam tyrimui genai kandidatai ir vieno nukleotido polimorfizmai buvo atrinkti remiantis mokslinių literatūros šaltinių analize: pasirinkti ne tik tie VNP, kurie statistiškai reikšmingai atkartoja ir patvirtina kitose populiacijose jau

nustatytas asociacijas, bet analizuoti ir nauji, dar netirti genominiai žymenys, siekiant nustatyti naujas statistiškai reikšmingas sritis, sietinas su karotenoidų kiekiu kraujo serume lietuvių populiacijoje.

**34 lentelė.** Tyrimui atrinkti karotenoidų apykaitoje dalyvaujančius baltymus koduojantys genai, genetinės sritys ir jų anotacija

Genas	Sritis	Anotacija	Funkcija
<i>BCMO1</i>	16q11.2	<i>beta-carotene oxygenase 1</i>	Simetrinis $\alpha$ - ir $\beta$ -karoteno bei $\beta$ -kriptoksantino skaidymas į retinolį
<i>NPC1L1</i>	7q21.1	<i>NPC1-like 1, multi-pass membrane protein</i>	Įvairių molekulių, taip pat ir cholesterolio bei $\alpha$ -tokoferolio, pernaša per ląstelės membranas
<i>CD36</i>	7q11.2	<i>CD36 molecule (thrombospondin receptor)</i>	Sąveika su įvairiais ligandais; trombospondino receptoriaus
<i>GSTP1</i>	11q13	<i>glutathione S-transferase pi 1</i>	Hidrofobinių ir elektrofilinių junginių kenksmingumo pašalinimas, konjuguojant su redukuotu glutationu
<i>ABCG5</i>	2q14.1	<i>ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 5</i>	Įvairių molekulių pernaša per ląstelės membranas; cholesterolio rezorbcijos ribojimas
<i>FABP1</i>	2q14.1	<i>fatty acid binding protein 1, liver</i>	Dalyvavimas įsisavinant, pernešant ir metabolizuojant kepenyse RR ir kitus hidrofobinius ligandus
<i>FABP2</i>	4q22	<i>fatty acid binding protein 2, intestinal</i>	Dalyvavimas ilgagrandžių RR metabolizme plonosios žarnos epitelinėse ląstelėse; svarba moduluojant ląstelių proliferaciją
<i>APOE</i>	19q12	<i>apolipoprotein E</i>	Triacilglicerolių turtingų lipidų katabolizmas
<i>LIPC</i>	15q21.1	<i>lipase, hepatic</i>	Triacilglicerolių hidrolazė; dalyvauja receptoriniame lipoproteinų pernašos mechanizme

Analizuoti 91 VNP devyniuose genuose, koduojančiuose karotenoidų pernašoje per apikalinę enterocito membraną ir tolesnėje apykaitoje dalyvaujančius baltymus: APOE, BCMO1, NPC1L1, CD36, GSTP1, ABCG5,

FABP1, FABP2 ir LIPC (**17 pav., 34 lent.**). Tolesnei analizei karotenoidų koncentracijos suskirstytos į kvartilius (**35 lentelė**).

**35 lentelė.** Karotenoidų koncentracijų kvartiliai

Kvartilis	Liuteinas+zeaksantinas	β- kriptoksantinas	β- karotenas	α- karotenas	likopenas
	koncentracija (μmol/l)				
Q1	≤0,192	≤ 0,06	≤0,248	≤0,078	≤0,327
Q2	0,1921-0,2675	0,061–0,1045	0,2481– 0,417	0,0781– 0,126	0,3271– 0,494
Q3	0,26751–0,371	0,10451– 0,171	0,4171– 0,689	0,126– 0,208	0,4941– 0,757
Q4	>0,371	>0,171	>0,689	>0,208	>0,757

Pagal tiriamus variantus nustacius genotipus, atliktas Hardžio ir Vainbergo pusiausvyros įvertinimas. Visi žymenys buvo pusiausviri ( $p > 0,001$ ).

Iš analizuotųjų 91 VNP nustatyti 28 VNP *BCMO1*, *CD36*, *NPC1L1*, *GSTP1*, *ABCG5*, *FABP1* ir *FABP2* genuose, kai genotipų dažnių skirstiniai statistiškai reikšmingai skiriasi karotenoidų koncentracijų kvartiliuose ( $\chi^2 p < 0,05$ ). Minėtų genotipų dažnių įverčiai karotenoidų kvartiliuose pagal analizuotus VNP bendroje tirtoje lietuvių populiacijoje tiriamos populiacijos vyrų ir moterų grupėse pateikti **3 priede**. Nustatytiems VNP apskaičiuoti alelių dažniai. Retojo alelio dažniai pateikiami **36 lentelėje**.

**36 lentelė.** Tirtų VNP retojo alelio dažniai

Genas	Chr	VNP	M	MAF	HW p	Genas	Chr	VNP	M	MAF	HW p
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs10205816	G	0,25	0,11	<i>CD36</i>	7q11.2	rs1537593	A	0,11	0,32
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs11891859	A	0,10	0,05	<i>CD36</i>	7q11.2	rs17154239	-	0,00	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs17031664	G	0,06	0,51	<i>CD36</i>	7q11.2	rs1722504	A	0,01	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs2278356	C	0,28	0,18	<i>CD36</i>	7q11.2	rs1761663	G	0,35	0,66
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs2278357	A	0,11	0,15	<i>CD36</i>	7q11.2	rs1880410	-	0,00	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4148179	G	0,40	0,78	<i>CD36</i>	7q11.2	rs2272350	-	0,00	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4148187	A	0,41	0,49	<i>CD36</i>	7q11.2	rs3173798	G	0,10	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4148188	A	0,40	0,49	<i>CD36</i>	7q11.2	rs3211812	-	0,00	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4148189	A	0,10	0,05	<i>CD36</i>	7q11.2	rs3211820	A	0,35	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4148195	A	0,11	0,16	<i>CD36</i>	7q11.2	rs3211827	C	0,34	1,00
<i>ABCG5</i>	2q14.1	rs4245786	G	0,20	0,83	<i>CD36</i>	7q11.2	rs3211830	A	0,10	1,00

ABCG5	2q14.1	rs4289236	A	0,19	0,18	CD36	7q11.2	rs3211881	G	0,07	0,29
ABCG5	2q14.1	rs4953020	A	0,38	0,89	CD36	7q11.2	rs3211885	A	0,44	0,34
ABCG5	2q14.1	rs6720173	C	0,11	0,15	CD36	7q11.2	rs3211890	-	0,00	1,00
ABCG5/8	2q14.1	rs10495909	-	0,00	1,00	CD36	7q11.2	rs3211901	-	0,00	1,00
ABCG5/8	2q14.1	rs6756629	A	0,05	1,00	CD36	7q11.2	rs3211908	A	0,09	0,69
APOE	19q12	rs7412	A	0,07	0,31	CD36	7q11.2	rs3211931	A	0,46	0,42
APOE	19q12	rs769449	A	0,10	1,00	CD36	7q11.2	rs3211938	-	0,00	1,00
BCMO1	16q11.2	rs11643312	A	0,39	0,89	CD36	7q11.2	rs3211942	-	0,00	1,00
BCMO1	16q11.2	rs11647597	C	0,19	1,00	CD36	7q11.2	rs3211956	C	0,10	0,70
BCMO1	16q11.2	rs11865869	G	0,25	0,30	CD36	7q11.2	rs3211958	G	0,46	0,34
BCMO1	16q11.2	rs12449108	A	0,18	0,66	CD36	7q11.2	rs3212007	A	0,01	1,00
BCMO1	16q11.2	rs3803652	-	0,00	1,00	CD36	7q11.2	rs3212160	A	0,45	0,28
BCMO1	16q11.2	rs4889298	G	0,43	0,22	CD36	7q11.2	rs4545029	A	0,46	0,42
BCMO1	16q11.2	rs6564859	G	0,39	0,89	CD36	7q11.2	rs5956	A	0,08	1,00
BCMO1	16q11.2	rs6564860	G	0,42	1,00	FABP1	2q14.1	rs1545223	G	0,49	0,03
BCMO1	16q11.2	rs6564863	A	0,30	0,52	FABP1	2q14.1	rs1545224	G	0,14	0,77
BCMO1	16q11.2	rs6564864	C	0,44	0,22	FABP1	2q14.1	rs2241883	G	0,49	0,03
BCMO1	16q11.2	rs7188650	G	0,29	1,00	FABP2	4q22	rs1799883	A	0,28	0,74
BCMO1	16q11.2	rs7202895	G	0,04	0,33	GSTP1	11q12	rs1695	G	0,26	0,30
BCMO1	16q11.2	rs7501331	A	0,23	0,85	GSTP1	11q12	rs1871042	A	0,27	0,17
BCMO1	16q11.2	rs8046134	A	0,18	0,25	GSTP1	11q12	rs3891249	-	0,00	1,00
BCMO1	16q11.2	rs9924126	G	0,48	0,89	GSTP1	11q12	rs4891	G	0,27	0,17
BCMO1	16q11.2	rs9925437	-	0,00	1,00	GSTP1	11q12	rs4986949	-	0,00	1,00
BCMO1	16q11.2	rs9937350	G	0,27	1,00	GSTP1	11q12	rs749174	A	0,27	0,17
CD36	7q11.2	rs10216184	G	0,35	0,88	GSTP1	11q12	rs8191439	-	0,00	1,00
CD36	7q11.2	rs1049654	A	0,45	0,34	GSTP1	11q12	rs8191444	-	0,00	1,00
CD36	7q11.2	rs1194180	G	0,01	1,00	GSTP1	11q12	rs8191451	-	0,00	1,00
CD36	7q11.2	rs1194181	A	0,11	0,32	LIPC	15q21.1	rs1800588	A	0,25	0,86
CD36	7q11.2	rs12234728	A	0,00	1,00	NPC1LI	7q21.1	rs10264715	A	0,28	0,31
CD36	7q11.2	rs12531218	-	0,00	1,00	NPC1LI	7q21.1	rs11763759	G	0,23	0,85
CD36	7q11.2	rs12706949	A	0,46	0,70	NPC1LI	7q21.1	rs217421	G	0,31	0,16
CD36	7q11.2	rs13236689	C	0,43	0,49	NPC1LI	7q21.1	rs217430	G	0,30	0,52
CD36	7q11.2	rs1334511	G	0,10	1,00	NPC1LI	7q21.1	rs217432	G	0,25	0,86
CD36	7q11.2	rs1534314	A	0,10	1,00	NPC1LI	7q21.1	rs217434	G	0,23	0,57
						NPC1LI	7q21.1	rs3187907	G	0,23	0,57

Asociacija tarp geno žymenų ir karotenoidų kiekio serume nustatyta lyginant pirmąjį koncentracijos kvartilį su trečiuoju ir ketvirtuoju, t. y. su tais kvartiliais, kur karotenoidų koncentracijos yra virš medianos. Vertinome galimybę (kitaip šansų santykį), kad individualaus karotenoido koncentracija pateks į pirmąjį kvartilį, kai nustatytas retasis alelis. Radome 13 alelių dviejuose genuose, sietinų su liuteino/zeaksantino, likopeno (vyrų grupėje) ir alfa karoteno (moterų grupėje) mažesnėmis serumo koncentracijomis.

**37 lentelė.** Genų variantai, sietini su mažesnėmis pavienių kraujo serumo karotenoidų koncentracijomis

Genai	VNP	Alelis, asocijuotas su sumažėjusia karotenoidų koncentracija kraujyje	Karotenoidai, kurių koncentracija sumažėjusi	ŠS	95 % PI	
<i>CD 36</i>	rs4545029	T	Liuteinas+zeaksantinas	1,52	1,10	2,11
	rs1334511	G	Liuteinas+zeaksantinas	2,80	1,59	4,94
			likopenas (V)	2,50	1,26	4,60
	rs1534314	A	Liuteinas+zeaksantinas	2,90	1,60	4,74
			likopenas (V)	2,40	1,27	4,55
	rs3212160	A	Liuteinas+zeaksantinas	1,50	1,08	2,08
	rs1049654	A	Liuteinas+zeaksantinas	1,50	1,08	2,08
	rs3211885	T	Liuteinas+zeaksantinas	1,65	1,18	2,29
	rs3211908	C	Liuteinas+zeaksantinas	3,40	1,87	6,16
		T	likopenas (V)	2,99	1,52	5,85
	rs3173798	T	Liuteinas+zeaksantinas	3,01	1,72	5,27
	rs3211931	T	Liuteinas+zeaksantinas	1,93	1,39	2,69
	rs3211956	T	Liuteinas+zeaksantinas	3,40	1,87	6,16
rs3211830	T	Liuteinas+zeaksantinas	2,80	1,59	4,94	
		likopenas (V)	2,49	1,76	4,55	
<i>BCMO1</i>	rs6564863	T	α-karotenas (M)	2,19	1,28	3,75

V – vyrų grupė, M – moterų grupė

Apskaičiavus šansų santykius (nustatyti ir 95 % pasikliautinieji intervalai) visiems tirtiems VNP, *CD 36* geno variantai rs4545029, rs1334511, rs1534314,



rs3212160, rs1049654, rs3211885, rs3211908, rs3173798, rs3211931, rs3211956, rs3211830 ir rs6564863 *BCMO1* gene įverčiai ( $\check{S}S \geq 1,5$ ; PI (1,08–6,16),  $p < 0,05$ ) yra reikšmingi pavienių karotenoidų koncentracijos sumažėjimui (**37 lent.**).

## 5. REZULTATŲ APTARIMAS IR DISKUSIJA

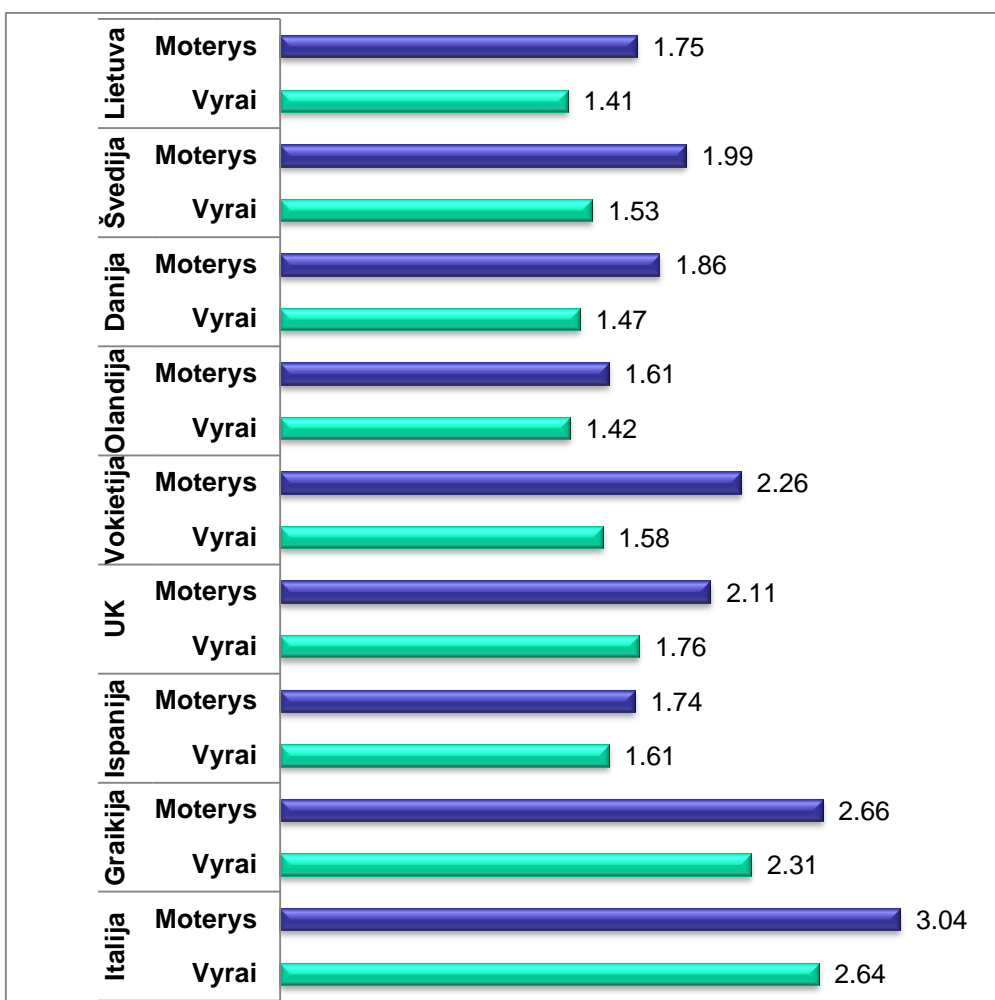
### 5.1. Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo karotenoidų kiekio įvairovė ir sąsajos su gyvenosenos ir demografiniais veiksniais

Tyrimo metu nustatyta vidutinė pavienių ir bendra kraujo serumo karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ ): liuteino + zeaksantino ( $0,278 \pm 0,131$ ),  $\beta$ -kriptoksantino ( $0,15 \pm 0,168$ ),  $\alpha$ -karoteno ( $0,153 \pm 0,121$ ),  $\beta$ -karoteno ( $0,522 \pm 0,37$ ), likopeno ( $0,557 \pm 0,299$ ), bendra ( $1,60 \pm 0,72$ ). Moterų kraujo serume bendros karotenoidų koncentracijos vidurkis buvo reikšmingai ( $p=0,0015$ ) didesnis nei vyrų. Gautus rezultatus palyginę su kitų Europos šalių analogiškų tyrimų duomenimis (Al-Delaimy ir kt. 2004), matome, kad lietuvių kraujo karotenoidų koncentracijos vienos mažiausių, ypač vyrų (**18 pav.**).

Lietuvoje atlikti pavieniai šios srities tyrimai. Statistiškai reikšmingai mažesnės riebaluose tirpių antioksidantų – likopeno ir  $\beta$ -karoteno – koncentracijos Vilniaus vyrų kraujyje lyginant su Linčiopingo tiriamaisiais rastos ir „LiVicordia“ projekto metu (Kristenson ir kt. 1997).

Mūsų darbe nustatyti dideli sezoniniai karotenoidų koncentracijų vidurkių skirtumai. Labiausiai tikėtina, jog šiems svyravimams darė įtaką skirtingas maistinių karotenoidų šaltinių – vaisių ir daržovių – suvartojimas skirtingais metų laikais. Tačiau karotenoidų koncentracija kraujyje priklauso ne vien nuo su maistu gaunamo šių junginių kiekio. Reikėtų paminėti sąvoką „biologinis įsisavinimas“, kuri apibūdina suvartoto produkto dalį, kuri patenka į organizmą ir naudojama

fiziologinėms reikmėms arba kaupiama kaip organizmo atsargos (Maiani ir kt. 2009). Biologinį įsisavinimą žmogaus organizme daug lemia rezorbcija, kuri gali būti veikiami tiek sąveikos tarp pačių karotenoidų – didelis vieno iš jų vartojimas gali slopinti kitų įsisavinimą (Khachik ir kt. 2002), tiek tokių fiziologinių veiksnių kaip lytis (Jansen ir kt. 2004). Reikšmingai didesnis bendras karotenoidų kiekis moterų serume gali būti siejamas tiek su skirtingais mitybos įpročiais, tiek su genetiniais ypatumais, darančiais įtaką metaboliniams keliams ir ypač pernašos mechanizmams (Reboul ir kt. 2013).



**18 pav.** Vidutinė serumo karotenoidų koncentracija įvairiose Europos valstybėse (pagal Al-Delaimy ir kt. 2004)

Statistiškai reikšmingai ( $p < 0,01$ ) skiriasi tirtų karotenoidų, išskyrus  $\beta$ -karoteno, koncentracijų vidurkiai skirtingo amžiaus tiriamųjų grupėse. Mažiausias bendras ir pavienių karotenoidų, išskyrus liuteiną ir zeaksantiną, vidurkis nustatytas vyresnių nei 65 metų asmenų grupėje. Neradome kitose šalyse atliktų populiacinių tyrimų, leidžiančių palyginti karotenoidų koncentracijos dinamiką įvairiose amžiaus grupėse: dažniausiai tyrimams pasirenkami tam tikrai amžiaus grupei priklausantys tiriamieji. Taigi paminėtina, jog mūsų tyrimo rezultatai gana dėsningi ir atitinka laisvųjų radikalų teoriją, kuri įvardija reaktyviuosius deguonies darinius (RDD) kaip vieną pagrindinių senėjimo procesų priežasčių: toksinis RDD poveikis ląsteliniams komponentams lemia oksidacinį pažeidimą, kuris su amžiumi sukelia ląstelių disfunkciją (Piotrowska ir kt. 2014).

Nagrinėti ne tik demografiniai, bet ir gyvenamosios veiksniai, kurie siejami su intensyvesniais oksidacijos procesais ir galimai sietini su organizmo antioksidantų kiekio pokyčiais: fizinio aktyvumo, rūkymo ir alkoholio vartojimo įpročiai ir jų sąsajos su karotenoidų koncentracijomis serume.

Esamų tyrimų rezultatai atskleidžia dvejopą fizinio aktyvumo vaidmenį: reguliarus, saikingas fizinis aktyvumas pasižymi apsauginiu poveikiu prieš reaktyviuosius deguonies ir azoto darinius; ir priešingai - ištvermės ir jėgos pratimai skatina oksidacinį stresą netreniruotame organizme (Kruk ir kt. 2014; Vaugoyeau ir kt. 2015).

Mūsų darbo metu gauti duomenys apie mažesnius likopeno,  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos vidurkius fiziškai itin aktyviai laisvalaikį leidžiančių asmenų grupėje bei nustatytas mažesnis  $\beta$ -karoteno kiekis sunkų fizinį darbą dirbančių asmenų grupėje leidžia daryti prielaidą, jog didelis fizinis aktyvumas gali padidinti reaktyviųjų deguonies darinių koncentraciją ir sumažinti antioksidacinį pajėgumą.

Cigarečių dūmai, didelis suvartojamo alkoholio kiekis yra reikšmingi oksidacinio streso šaltiniai. Alkoholio skilimo metu kepenyse susidarančios molekulės, citochromo P450 sistemos fermentų veiklos skatinimas, kintamo

valentingumo metalų jonų koncentracijos pokyčiai – tai tik keletas veiksnių, lemiančių intensyvesnį RDD susidarymą (Cederbaum ir kt. 2012). Antioksidacinėmis savybėmis pasižymintys mikroelementai yra gynybos prieš laisvaradikalę oksidaciją sistemos dalis, todėl svarbu suprasti sąsajas tarp rūkymo, alkoholio vartojimo ir kraujo antioksidantų kiekio. Nustatėme, jog aktyviai rūkančių asmenų kraujyje cirkuliuojančio  $\alpha$ -karoteno koncentracija 25 %, o  $\beta$ -karoteno ir  $\beta$ -kriptoksantino – net 37,5 % mažesnė, palyginti su nerūkančiųjų.  $\beta$ -kriptoksantino koncentracija buvo 1,5 karto mažesnė ir buvusių rūkalių grupėje, palyginti su niekada nerūkiusiais tiriamaisiais. Tai gali būti aiškinama tuo, jog rūkymas indukuoja vitamino A pirmtakų virtimą retinaliu, todėl mažėja jų koncentracija (Sugiura ir kt. 2009). Labai panašius rezultatus pateikia tyrimų metanalizės (Alberg ir kt. 2002) duomenys: aktyvių rūkalių kraujyje cirkuliuojančio  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno kiekis yra daugiau nei 25 % mažesnis nei nerūkančių asmenų. Taip pat nustatyta, jog minėtų junginių koncentracijos buvo 16–22 % mažesnės buvusių rūkalių grupėje, palyginti su niekada nerūkiusiais tiriamaisiais. Tačiau tiek mūsų, tiek kitų tyrimų duomenys rodo, jog rūkymas yra silpnai susijęs su provitamino A savybių neturinčių karotenoidų – liuteino, zeaksantino ir likopeno – kiekiu kraujyje.

Ne tik karotenų, bet ir likopeno koncentracijų skirtumai išryškėjo lyginant skirtingus alkoholio vartojimo įpročius turinčius tiriamuosius. Alkoholio nevartojančių asmenų  $\beta$ -kriptoksantino kiekis serume kone dvigubai (1,8), o likopeno – 1,4 karto viršijo minėtų junginių koncentracijas dažnai alkoholį vartojančiųjų grupėje.  $\alpha$ -karoteno kiekis buvo šiek tiek (12,5 %) didesnis kai kada alkoholį pavartojančių nei visai jo nevartojančių tiriamųjų serume. Tokie rezultatai neprieštarauja prielaidai apie teigiamą alkoholio saikingo vartojimo poveikį (Tsang ir kt. 2005).

Mūsų tyrimo metu nustatyti tirtų kraujo serumo karotenoidų, išskyrus liuteiną ir zeaksantiną, statistiškai reikšmingi ( $p < 0,05$ ) kiekių vidurkių skirtumai atskirose KMI kategorijose: mažesnė bendra karotenoidų,  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karoteno ir  $\beta$ -

kriptoksantino koncentracija nutukusių asmenų grupėse, palyginti su normalaus svorio tiriamaisiais. Tai atitinka ir analogiškų tyrimų duomenis, kad antsvorio turinčių ir nutukusių asmenų kraujyje dažnai nustatoma mažesnė vitaminų ir mineralų koncentracija, palyginti su šiais rodikliais normalaus svorio asmenų kraujyje (Mohn ir kt. 2005; de Souza Valente da Silva ir kt. 2007; Aasheim ir kt. 2008; Gunanti ir kt. 2014). Tokie rezultatai tikėtini dėl vaisių, daržovių, ir bendros maisto energinės vertės suvartojimo skirtumų minėtose grupėse (Landrier ir kt. 2012). Atvirkštinė priklausomybė tarp riebalinio audinio masės ir karotenoidų kiekio kraujyje gali būti aiškinama ir tuo, kad esant nutukimui karotenoidai kaupiami ir izoliuojami adipocituose, todėl mažėja jų koncentracija kraujo plazmoje. Tačiau nutukusių asmenų karotenoidų koncentracija mažesnė ir riebaliniame audinyje (Chung ir kt. 2009). Nedaug žinoma apie veiksnius, darančius įtaką šių junginių pasiskirstymui riebaliniame audinyje, tačiau tikėtina, jog svarbus vaidmuo tenka pernašos sistemoms. Reikalingi detalesni tyrimai, tačiau jau yra patvirtintas CD36 dalyvavimas likopeniui ir liuteinui patenkant į riebalinį audinį ir adipocitus (Moussa ir kt. 2011).

## **5.2. Likopeno suvartojimo ypatumai, pagrindiniai maistiniai šaltiniai ir jų reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką**

Likopenas yra aptinkamas tik nedaugelyje maisto produktų, todėl Lietuvoje pagrindiniai jo šaltiniai maiste panašūs kaip ir kitose valstybėse (Porrini ir kt. 2005) – pomidorai ir jų produktai teikia didžiausią paros likopeno kiekį. Sezoninių suvartojimo skirtumų nenustatyta Anglijoje, Airijoje, Suomijoje, tačiau jie gana ryškūs Ispanijoje (vasarą likopeno suvartojama daugiausia) (O'Neill ir kt. 2001). Labiausiai tikėtina, jog šie svyravimai yra priklausomi nuo skirtingo pagrindinių likopeno šaltinių prieinamumo skirtingais metų laikais. Mūsų tyrimo rezultatai rodo, kad Lietuvoje gana svarbūs likopeno šaltiniai yra ir rožiniai greipfrutai

(suvartojimas padidėja šaltuoju metų laiku) bei arbūzai (daugiau vartojami vasarą) – nelygu metų laikas, juos vartojant gaunama apie 20 % paros likopeno.

Vertinant vidutinius likopeno suvartojimo skirtumus tarp lyčių paaiškėjo, jog moterys likopeno vartoja maždaug 10 % daugiau nei vyrai. Tačiau gan platus suvartojimo rodiklių išsibarstymas matomas tiek vyrų, tiek moterų grupėje.

Gautus vidutinio suvartojamo likopeno paros kiekio duomenis lyginant su kitose Europos valstybėse atliktų analogiškų tyrimų duomenimis (**38 lent.**) matoma, jog Lietuvoje likopeno suvartojimo rodikliai yra vieni mažiausių.

**38 lentelė.** Vidutinis likopeno suvartojimas (mg/p) šešiose Europos valstybėse rudens ir žiemos sezonu

Europos valstybė	n	Likopeno suvartojimas (mg/p)	
		mediana	kvartiliai (Q1-Q3)
Prancūzija <sup>1</sup>	76	4,75	(2,14–8,31)
Ispanija <sup>1</sup>	70	1,64	(0,50–2,64)
Jungtinė Karalystė <sup>1</sup>	71	5,01	(3,2–7,28)
Airija <sup>1</sup>	76	4,43	(2,73–7,13)
Olandija <sup>1</sup>	75	4,86	(2,79–7,53)
Lietuva (2008 m.) <sup>2</sup>	48	1,98	(1,16-4,06)
Lietuva	497	1,37	(0,00-4,62)

<sup>1</sup> (O'Neill ir kt. 2001), <sup>2</sup> (Mažeikienė ir kt. 2008)

Nepaisant akivaizdaus teigiamo likopeno poveikio žmogaus sveikatai, jis nėra priskiriamas būtinoms maisto medžiagoms, todėl nėra nustatytos rekomenduojamos šio antioksidanto paros normos. Europos maisto saugos tarnyba (EFSA) yra nustatiusi leistiną 0,5 mg kilogramui kūno masės likopeno paros dozę (EFSA, 2008). Mūsų tyrimo rezultatai rodo, jog vidutinis vieno asmens suvartotas likopeno kiekis – 0,07 miligramo kilogramui kūno masės per parą – yra daugiau nei 7 kartus mažesnis už minėtą leistiną dozę.

Daugeliu atvejų tyrimų (Dauchet ir kt. 2005, 2006; He ir kt. 2006, 2007) metanalizės duomenys rodo, jog asmenims, vartojantiems daugiau vaisių ir daržovių, reikšmingai sumažėja rizika sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis. Atvirkštinę priklausomybę tarp kraujo likopeno koncentracijos ir minėtos rizikos dažniausiai patvirtina ir jau cirkuliuojančio kraujyje likopeno kiekio tyrimai (Rissanen ir kt. 2001; Sesso ir kt. 2004; Hak ir kt. 2004; Ito ir kt. 2006). Deja, kaip ir mūsų atveju, dauguma tyrimų (Ascherio ir kt. 1999; Hirvonen ir kt. 2000; Sesso ir kt. 2003; Osganian ir kt. 2003; Tavani ir kt. 2006) tiesioginio statistiškai reikšmingo ryšio tarp su maistu gaunamo likopeno ir sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis nenustatė. Tokie prieštaringi rezultatai bei mūsų tyrimo metu nustatyta statistiškai reikšminga, tačiau silpna koreliacija tarp likopeno suvartojimo ir jo koncentracijos kraujyje verčia manyti, jog šio egzogeninio lipofilinio junginio koncentracija priklauso ne tik nuo to, kiek jo suvartojama, bet ir nuo individualių organizmo savybių bei genetinių ypatumų, turinčių įtakos įsisavinimui.

### **5.3. Kraujo serumo karotenoidų kiekio reikšmė vertinant sergamumo širdies ir kraujagyslių ligomis riziką**

Tyrimo metu siekėme įvertinti karotenoidų kiekio sąsajas su sergamumu širdies ir kraujagyslių ligomis.

Apskaičiavome, jog likopeno ir bendra karotenoidų koncentracijos statistiškai reikšmingai mažesnės tiriamųjų, sergančių ŠKL, palyginti su šiomis ligomis nesergančiais asmenimis.

Nustačius minėtų junginių koncentracijų skirtumus, įvertinta rizika sirgti ŠKL: ji 2,6 karto didesnė asmenims, kurių bendra kraujo serumo karotenoidų koncentracija yra mažiausia (žemiausias kvartilis), palyginti su didžiausią koncentraciją (aukščiausias kvartilis) turinčių asmenų grupės rizika. Likopeno atveju ši rizika padidėja beveik iki 3 kartų.

Įvertinome koreliaciją su kraujo biocheminiais ŠKL rizikos rodikliais: visų pavienių karotenoidų koncentracijos reikšmingai koreliavo su bendrojo cholesterolio ir DTL cholesterolio (išskyrus liuteiną ir zeaksantiną) koncentracija. Tik likopeno atveju nustatyta teigiama koreliacija su MTL cholesterolio koncentracija. Ši koreliacija gali būti aiškinama tuo, jog nevalgiusio žmogaus kraujyje didžioji likopeno dalis aptinkama MTL sudėtyje (76 %) (Moran ir kt. 2013). Faktas, kad padidėjusi MTL oksidacija kraujagyslėse yra vienas kertinių etapų aterogenezės procese (Gammone ir kt. 2015), didelis likopeno kiekis šiose dalelėse galbūt apsaugo jas nuo oksidacijos ir tokiu būdu atlieka svarbų vaidmenį ŠKL prevencijoje.

Kraujo serume padidėjęs CRB kiekis yra vertinamas kaip nepriklausomas aterosklerozės rizikos veiksnys (Yeh ir kt. 2003). Mūsų tyrimo metu nustatytas atvirkštinis ryšys tarp  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno,  $\beta$ -kriptoksantino ir bendros karotenoidų koncentracijos ir uždegimo žymens – didelio jautrumo C reaktyviojo baltymo kiekio, parodo galimą šių junginių vaidmenį mažinant nedidelio laipsnio uždegimą, taigi ir KŠL riziką. Paminėtina ir tai, kad tyrėjų grupė, apibendrinusi 12 metų tyrimo duomenis (Julia ir kt. 2014), nustatė, jog didesnis  $\beta$ -karoteno kiekis gali būti susijęs su nedidelio laipsnio uždegimu ir ilgalaikėje perspektyvoje.

Taip pat teigiama koreliacija rasta ir tarp  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos bei Apo A-I kiekio. Apo A-I yra pagrindinis DTL apoproteinas ir svarbus atvirkštinėje cholesterolio pernašoje iš ląstelių (Vollbach ir kt. 2005).

#### **5.4. Genomo žymenų sąsajos su kraujo serumo karotenoidų koncentracija**

Tyrimų, kuriais siekiama nustatyti genų variantus, asocijuotus su karotenoidų koncentracija, atlikta vos keletas, tačiau susidomėjimas šia sritimi vis didėja.

Septintos chromosomos 21.1 srityje nustatyta vienuolika VNP, reikšmingai susijusių su sumažėjusia liuteino ir zeaksantino, bei keturi VNP – su mažesne



likopeno koncentracija serume vyrų grupėje. Tai leidžia manyti, kad *CD36* yra genas kandidatas, kurio koduojamas baltymas dalyvauja minėtų karotenoidų apykaitoje. 36 leukocitų diferenciacijos antigenas (angl. *cluster of differentiation*) (*CD36*), kitaip dar vadinamas riebalų rūgščių translokaze (angl. *fatty acid translocase* (*FAT*)), – tai yra 90 kDa transmembraninis glikoproteinas, daugiausia ekspresuojamas epitelio ląstelėse, adipocituose, trombocituose ir makrofaguose (Terpstra ir kt. 2000), tačiau aptinkamas ir dvylikapirštėje bei tuščiojoje žarnose (Lobo ir kt. 2001). Šis receptorinę funkciją atliekantis baltymas gali sąveikauti su įvairiais ligandais: baltymas yra vienas iš keturių pagrindinių trombocitų paviršiaus glikoproteinų ir atlieka trombospondino receptoriaus funkciją trombocituose bei įvairių kitų linijų ląstelėse. Kadangi trombospondinai yra labai paplitę baltymai, dalyvaujantys įvairiuose adhezijos procesuose, tikėtina, kad ir *CD36* baltymui gali būti būdinga adhezijos molekulės funkcija. Be sąveikos su trombospondinu, jis geba jungtis su kolagenu, anijoniniais fosfolipidais ir oksiduotais MTL (Kuijpers, 2014).

*CD36* dalyvavimas karotenoidams patenkant į enterocitus daugiausia tirtas naudojant pelių enterocitų bei adipocitų kultūras (van Bennekum ir kt. 2005; Moussa ir kt. 2011). Atlikti ir pavieniai tyrimai, atskleidžiantys šio baltymo vaidmenį karotenoidų apykaitoje žmogaus organizme. P. Borelio tyrėjų grupės (Borel ir kt. 2014) paskelbti rezultatai parodė, kad asmenų, kuriems nustatytas CC genotipas *CD36* rs13230419 srityje, plazmos liuteino koncentracija buvo mažesnė ( $P < 0,05$ ) nei asmenų, kuriems nustatytas T alelis. Asociacija tarp *CD36* ir plazmos liuteino patvirtinta 622 tiriamųjų kohortoje (Borel ir kt. 2011). Šio tyrimo metu nagrinėtos minėto VNP sąsajos tik su liuteino koncentracija serume. Mūsų darbo metu gauti rezultatai rodo galimas šio baltymo genetinės įvairovės sąsajas ne tik su liuteino ir zeaksantino, bet ir likopeno kiekiu kraujyje.

Kitas genas, *BCMO1*, kurio rs6564863 T alelis mūsų tyrimo metu nustatytas kaip rizikos alelis, siejamas su sumažėjusia  $\alpha$ -karoteno koncentracija kraujo serume moterų grupėje, koduoja vieną kertinių provitamino A aktyvumu

pasižyminčių karotenoidų apykaitos baltymų – karotenoidų skaidyme dalyvaujančią  $\beta,\beta$ -karoteno-15,15'-monooksigenazę (BCMO1). Šis baltymas vykdo simetrinį  $\alpha$ - ir  $\beta$ -karoteno bei  $\beta$ -kriptoksantino skaidymą į retinolį. Tai citoplazminis baltymas, santykinai dideliais kiekiais esantis įvairių audinių ir organų epitelyje: skrandyje, plonojoje ir storajoje žarnose, taip pat hepatocituose bei kasos ląstelėse (Moran ir kt. 2013). *BCMO1* genetinių variantų sąsajos su karotenoidų koncentracija nagrinėtos vieninteliame tokio tipo iki šiol atliktame plataus masto genomo asociacijų tyrime (Ferrucci ir kt. 2009). Šis tyrimas, vykdytas italų ir dviejų JAV tiriamųjų kohortose, parodė, kad VNP, esantis šalia *BCMO1* geno, rs6564851, statistiškai reikšmingai asocijuotas su keletu kraujo karotenoidų koncentracijomis: G alelis asocijuotas su didesne  $\alpha$  ir  $\beta$ -karoteno koncentracija ir mažesniu liuteino, zeaksantino ir likopeno kiekiu. Šie, kaip ir mūsų tyrimo, rezultatai patvirtina  $\beta,\beta$ -karoteno-15,15'-monooksigenazės ir ją koduojančio geno variantų dalyvavimą karotenų apykaitoje.

## 6. IŠVADOS

- 1) Vidutinė kraujo serumo karotenoidų koncentracija ( $\mu\text{mol/l}$ ) tiriamosios grupės asmenų kraujo serume – liuteino ir zeaksantino  $0,28 \pm 0,13$ ,  $\beta$ -kriptoksantino  $0,15 \pm 0,17$ ,  $\alpha$ -karoteno  $0,15 \pm 0,12$ ,  $\beta$ -karoteno  $0,52 \pm 0,37$ , likopeno  $0,56 \pm 0,3$ , bendra  $1,60 \pm 0,72$ . Tiek bendra, tiek pavienių karotenoidų koncentracija lietuvių populiacijoje yra viena mažiausių, palyginti su kitose Europos šalyse atliktų analogiškų tyrimų rezultatais.
  
- 2) Lytis, amžius, sezonas ir rūkymo įpročiai – svarbiausi demografiniai ir gyvenamosios veiksniai, turintys reikšmingą įtaką bendram karotenoidų ir daugumos pavienių kraujo serumo karotenoidų kiekiui:
  - a. Moterų serume bendras karotenoidų kiekis buvo reikšmingai ( $p=0,0015$ ) didesnis nei vyrų.
  - b. Mažiausias bendras ir individualių karotenoidų vidurkis nustatytas vyresnių nei 65 metų asmenų grupėje.
  - c. Mažiausia karotenoidų koncentracija buvo pavasarį ( $1,31 \pm 0,64 \mu\text{mol/l}$ ), didžiausia – rudenį ( $1,76 \pm 0,85 \mu\text{mol/l}$ ).
  - d. Mažesni vidutiniai  $\alpha$ -,  $\beta$ -karoteno ir  $\beta$ -kriptoksantino kiekiai nustatyti nutukusiems, o  $\beta$ -karoteno ir likopeno – itin didelio fizinio aktyvumo asmenims.
  - e. Visų serumo karotenų, bet ne ksantofilų, koncentracijos statistiškai reikšmingai ( $p<0,05$ ) skyrėsi rūkalių ir nerūkančių tiriamųjų grupėse.
  - f. Skirtingus alkoholio vartojimo įpročius turinčių asmenų grupėse statistiškai reikšmingai ( $p<0,002$ ) skyrėsi  $\alpha$ -karoteno, likopeno ir  $\beta$ -kriptoksantino koncentracijų vidurkiai.

- 3) Apskaičiuotas vidutinis likopeno suvartojimas, nustatyti pagrindiniai maistiniai jo šaltiniai, ryšys su kraujo serumo likopeno koncentracija:
- Pagrindiniai likopeno šaltiniai yra pomidorai ir jų produktai (78,8 %), arbūzai (11,9 %), rožiniai greipfrutai (9,3 %).
  - Vienas asmuo suvartoja vidutiniškai 5,05 ( $\pm 7,48$ ) mg (tai yra 0,08 miligramo kilogramui kūno masės) likopeno per parą.
  - Lytis, sezoniškumas ir amžius turi statistiškai reikšmingą įtaką likopeno suvartojimo skirtumams lietuvių populiacijoje.
  - Su maistu gaunamo likopeno ir šio junginio kiekis kraujyje koreliuoja statistiškai reikšmingai, tačiau silpnai ( $r=0,361$ ,  $p<0,01$ ).
- 4) Nustatyti genomo žymenys, sietini su serumo karotenoidų koncentracija:
- 7 chromosomos 21.1 srityje nustatyta vienuolika VNP (rs4545029, rs1334511, rs1534314, rs3212160, rs1049654, rs3211885, rs3211908, rs3173798, rs3211931, rs3211956, rs3211830), reikšmingai susijusių su sumažėjusia liuteino ir zeaksantino koncentracija, bei keturi VNP (rs1334511, rs1534314, rs3211908, rs3211830) – su mažesne likopeno koncentracija kraujo serume vyrų grupėje.
  - 16q11.2 genomo srityje nustatytas VNP rs6564863 *BCMO1* gene, sietinas su mažesne serumo  $\alpha$ -karoteno koncentracija moterų grupėje.
- 5) Ištirtos kraujo serumo karotenoidų kiekio ir su maistu gaunamo likopeno sąsajos su sergamumu širdies ir kraujagyslių ligomis bei kraujo biocheminiais šių ligų rizikos veiksniais:

- a. Mažesnė kraujo serumo vidutinė likopeno ir bendra karotenoidų koncentracija susijusi su padidėjusia širdies ir kraujagyslių ligų rizika.
- b. Lyginant vidutinį likopeno suvartojimą ŠKL sergančių ir šiomis ligomis nesergančių asmenų grupėse, statistiškai reikšmingo skirtumo nerasta ( $p=0,393$ ).
- c. Didesnis vidutinis su maistu gaunamo likopeno kiekis koreliuoja su didesne DTL cholesterolio koncentracija kraujyje ( $r=0,079$ ;  $p<0,001$ ).
- d. Didesnis tiek bendras, tiek daugumos pavienių serumo karotenoidų kiekio vidurkis statistiškai reikšmingai koreliuoja su didesne DTL cholesterolio ir mažesne didelio jautrumo CRB koncentracija.
- e. Teigiamą koreliaciją nustatyta tarp Apo A-I bei  $\alpha$ -karoteno,  $\beta$ -karoteno ir bendros karotenoidų koncentracijos.

## LITERATŪRA

1. Aasheim ET, Hofso D, Hjelmessaeth J, Birkeland KI, Bohmer T. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 362–9.
2. Agarwal M, Parameswari RP, Vasanthi HR, Das DK. Dynamic Action of Carotenoids in Cardioprotection and Maintenance of Cardiac Health. *Molecules* 2012; 17: 4755–69.
3. Alberg A. The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. *Toxicology* 2002; 180(2): 121–37.
4. Al-Delaimy WK, et al. Plasma levels of six carotenoids in nine European countries: report from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr* 2004; 7: 713–22.
5. Arab L, Steck S. Lycopene and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (Suppl 6): 1691s–1695s.
6. Armoza A, Haim Y, Bashiri A, Wolak T, Paran E. Tomato extract and the carotenoids lycopene and lutein improve endothelial function and attenuate inflammatory NF- $\kappa$ B signaling in endothelial cells. *J Hypertens* 2013; 31(3): 521–9.
7. Ascherio A, Rimm EB, Hernan MA, et al. Relation of consumption of vitamin E, vitamin C, and carotenoids to risk for stroke among men in the United States. *Ann Intern Med* 1999; 130: 963–70.
8. Ashor AW, Siervo M, Lara J, Oggioni C, Mathers JC. Antioxidant vitamin supplementation reduces arterial stiffness in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Nutr* 2014; 144(10): 1594–602.
9. ATBC (Alpha-tocopherol, beta-carotene) cancer prevention study group. The effect of vitamin E and beta carptene on the incidence of lung cancer and other cancers in smokers. *N England J Med* 1994; 330: 1029–35.

10. Azqueta A, Collins AR. Carotenoids and DNA damage. *Mutat Res* 2012; 733: 4–13.
11. Banys V, Kučinskienė ZA, Andrejevaitė V, Kaminskas A, Jablonskienė V, Vitkus D. Ciklofilino A ir tradicinių aterosklerozės žymenų reikšmė vertinant širdies ir kraujagyslių ligas. *Laboratorinė medicina* 2014; 16(1): 3–13.
12. Banys V. Trombocitų hiperfunkcijos vaidmuo aterosklerozės ir metabolinio sindromo patogenezėje. *Laboratorinė medicina* 2012; 14(3): 136–46.
13. Bhosale P, Bernstein PS. Vertebrate and invertebrate carotenoid-binding proteins. *Arch Biochem Biophys* 2007; 458(2): 12–7.
14. Bhosale P, Li B, Sharifzadeh M, Gellermann W, Frederick JM, Tsuchida K, et al. Purification and partial characterization of a lutein-binding protein from human retina. *Biochemistry* 2009; 48: 4798–807.
15. Froehlich K, Kaufmann K, Bitsch R, Boehm V. Effects of ingestion of tomatoes, tomato juice and tomato purée on contents of lycopene isomers, tocopherols and ascorbic acid in human plasma as well as on lycopene isomer pattern. *Br J Nutr* 2006; 95: 734–741.
16. Borel P, de Edelenyi FS, Vincent-Baudry S, Malezet-Desmoulin C, Margotat A, Lyan B, et al. Genetic variants in BCMO1 and CD36 are associated with plasma lutein concentrations and macular pigment optical density in humans. *Ann Med* 2010; 43: 47–59.
17. Borel P, de Edelenyi FS, Vincent-Baudry S, Malezet-Desmoulin C, Margotat A, Lyan B, et al. Genetic variants in BCMO1 and CD36 are associated with plasma lutein concentrations and macular pigment optical density in humans. *Ann Med* 2011; 43(1): 47–59.
18. Borel P, Desmarchelier C, Nowicki M, Bott R, Morange S, Lesavre N. Interindividual variability of lutein bioavailability in healthy men: characterization, genetic variants involved, and relation with fasting plasma lutein concentration. *Am J Clin Nutr* 2014; 100(1): 168–75.

19. Borel P, Desmarchelier C, Nowicki M, Bott R. A Combination of Single-Nucleotide Polymorphisms Is Associated with Interindividual Variability in Dietary  $\beta$ -Carotene Bioavailability in Healthy Men. *J Nutr* 2015; 145(8): 1740–7.
20. Borel P, Desmarchelier C, Nowicki M, Bott R. Lycopene bioavailability is associated with a combination of genetic variants. *Free Radic Biol Med* 2015; 83: 238–44.
21. Borel P, Moussa M, Reboul E, Lyan B, Defoort C, Vincent-Baudry S, et al. Human fasting plasma concentrations of vitamin E and carotenoids, and their association with genetic variants in apo C-III, cholesteryl ester transfer protein, hepatic lipase, intestinal fatty acid binding protein and microsomal triacylglycerol transfer protein. *Br J Nutr* 2009; 101: 680–7.
22. Borel P, Moussa M, Reboul E, Lyan B, Defoort C, Vincent-Baudry S, et al. Human plasma levels of vitamin E and carotenoids are associated with genetic polymorphisms in genes involved in lipid metabolism. *J Nutr* 2007; 137: 2653–9.
23. Borel P. Genetic variations involved in interindividual variability in carotenoid status. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56: 228–241.
24. Braun L, Cohen M, Herbs and Natural Supplements – An Evidence based Guide (2nd Ed). Elsevier Australia 2007.
25. Brill F. Carotenoids as Functional Foods. *Nat therap* 2009; 25(2): 26–33.
26. Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H. Carotenoids: Handbook. Birkhauser Verlag, 2004.
27. Brown MJ, Ferruzzi MG, Nguyen ML, Cooper DA, Eldridge AL, Schwartz SJ, et al. Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 396–403.
28. Buijsse B, Feskens EJ, Kwape L, Kok FJ, Kromhout D. Both alpha- and beta-carotene, but not tocopherols and vitamin C, are inversely related to



- 15-year cardiovascular mortality in Dutch elderly men. *J Nutr* 2008; 138(2): 344–50.
29. Cardinault N, Gorrard J-M, Tyssandier V, Grolier P, Rock E, Borel P. Short-term supplementation with lutein affects biomarkers of lutein status similarly in young and elderly subjects. *Exp Gerontol* 2003; 38(5): 573–82.
30. Carroll YL, Corridan BM, Morrissey PA. Carotenoids in young and elderly healthy humans: Dietary intakes, biochemical status and diet-plasma relationships. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 644–53.
31. Cederbaum AI. Alcohol metabolism. *Clin Liver Dis* 2012; 16(4): 667–85.
32. Chen B, McClements DJ, Decker EA. Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annu Rev Food Sci Technol* 2013; 4: 35–56.
33. Chung HY, Ferreira AL, Epstein S, Paiva SA, Castaneda-Sceppa C, Johnson E.J. Site-specific concentrations of carotenoids in adipose tissue: Relations with dietary and serum carotenoid concentrations in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 533–9.
34. Clevidence BA, Bieri JG. Association of carotenoids with human plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* 1993; 214: 33–46.
35. Coj, A. Molytė, Z. A. Kučinskienė, J. Arasimavičius, V. Kučinskas. Aterosklerozės žymenų tyrimai lietuvių šeimose. *Laboratorinė medicina* 2013; 15(3): 119–25.
36. Craft NE, Brown ED, Smith JC Jr. Effects of storage and handling conditions on concentrations of individual carotenoids, retinol, and tocopherol in plasma. *Clin Chem* 1988; 34(1): 44–8.
37. Cruickshank TM, Reyes AR, Ziman MR. A systematic review and meta-analysis of strength training in individuals with multiple sclerosis or Parkinson disease. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(4): e411.
38. D’Odorico A, Martines D, Kiechl S, et al. High plasma levels of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene are associated with a lower risk of atherosclerosis: results from the Bruneck study. *Atherosclerosis* 2000; 153: 231–9.

39. Da Costa LA, García-Bailo B, Badawi A, El-Soheily A. Genetic determinants of dietary antioxidant status. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012; 108: 179–200.
40. Dauchet L, Amouyel P & Dallongeville J. Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Neurology* 2005; 65: 1193–7.
41. Dauchet L, Amouyel P, Hercberg S, et al. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 2006; 136: 2588–2593.
42. de Souza Valente da Silva L, Valeria da Veiga G, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutrition* 2007; 23: 392–7.
43. Didžiapetrienė J, Uknevičiūtė G, Bublevič J, Uleckienė S, Kazbarienė B, Stukas R. Antioksidantų vartojimo galimybės onkologijoje. *Sveikatos mokslai* 2011; 21(7): 154–9.
44. Domarkienė I. Lietuvos populiacijos genetinės struktūros tyrimas remiantis vieno nukleotido polimorfizmų asociacijos su liga analize. Daktaro disertacija. Vilnius, 2015.
45. Domarkienė I, Pranculis A, Germanas S, Jakaitienė A, Vitkus D, Dženkevičiūtė V, Kučinskienė Z, Kučinskas V. RTN4 and FBXL17 Genes are Associated with Coronary Heart Disease in Genome-Wide Association Analysis of Lithuanian Families. *Balkan Journal of Molecular Genetics* 2013; 16(2): 17–22.
46. Domarkienė S, Tamošiūnas A, Rėklaitienė R, Šidlauskienė D, Jurėnienė K, Margevičienė L, Buivydaitė K, Kazlauskaitė M. Trends in main cardiovascular risk factors among middle-aged Kaunas population between 1983 and 2002. *Medicina* 2003; 12: 1193–9.

47. Domej W, Oetl K, Renner W. Oxidative stress and free radicals in COPD-- implications and relevance for treatment. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2014; 17(9): 1207–24.
48. Dwyer JH, Navab M, Dwyer KM, Hassan K, Sun P, Shircore A, et al. Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: the Los Angeles atherosclerosis study. *Circulation* 2001; 103: 2922–7.
49. EFSA: Use of Lycopene as a food colour – Scientific Opinion of the Panel on Food additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food. 2008; <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/674>
50. Erdman J, Bierer TL, Gugger ET. Absorption and transport of carotenoids. *Ann NY Acad Sci* 1993; 691: 76–85.
51. Feng D, Ling WH, Duan RD. Lycopene suppresses LPS-induced NO and IL-6 production by inhibiting the activation of ERK, p38MAPK, and NF- $\kappa$ B in macrophages. *Inflamm Res* 2010; 59(2): 115–21.
52. Ferrucci L, Perry JR, Matteini A, Perola M, Tanaka T, Silander K, et al. Common Variation in the beta-carotene 15,15'-monooxygenase 1 gene affects circulating levels of carotenoids: a genome-wide association study. *Am J Hum Genet* 2009; 84: 123–33.
53. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 2014; 6(2): 466–88.
54. Frohlich K, Karin Kaufmann K, Roland Bitsch R, Bohm V. Effects of ingestion of tomatoes, tomato juice and tomato pureé on contents of lycopene isomers, tocopherols and ascorbic acid in human plasma as well as on lycopene isomer pattern. *British Journal of Nutrition* 2006; 95: 734–41.
55. Gammone MA, Riccioni G, D'Orazio N. Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food Nutr Res* 2015; 59: 26762.
56. Ginter E, Simko V, Panakova V. Antioxidants in health and disease. *Bratisl Lek Listy* 2014; 115(10): 603–6.

57. Giordano P, Scicchitano P, Locorotondo M, Mandurino C, Ricci G, Carbonara S, et al. Carotenoids and cardiovascular risk. *Curr Pharmal Des* 2012; 18: 5577–89.
58. Grabauskas V, Klumbienė J, Petkevičienė J, Petrauskienė A, Tamošiūnas A, Kriaučionienė V, Ramazauskienė V. Lėtinių neinfekcinių ligų rizikos veiksnių paplitimas tarp Lietuvos kaimiškųjų rajonų gyventojų: CINDI programos tyrimas, 2007 m. *Medicina (Kaunas)* 2008; 44(8): 633–9.
59. Granada F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, Blanco I. Lutein ester in serum after lutein supplementation in human subjects. *Br J Nutr* 1998; 80: 445–9.
60. Gunanti IR, Marks GC, Al-Mamun A, Long KZ. Low serum concentrations of carotenoids and vitamin E are associated with high adiposity in Mexican-American children. *J Nutr* 2014 Apr; 144(4): 489–95.
61. Guruvayoorappan C, Kuttan G. Beta-carotene inhibits tumor-specific angiogenesis by altering the cytokine profile and inhibits the nuclear translocation of transcription factors in B16F-10 melanoma cells. *Integr Cancer Ther* 2007; 6: 258–70.
62. Hak AE, Ma J, Powell CB, et al. Prospective study of plasma carotenoids and tocopherols in relation to risk of ischemic stroke. *Stroke* 2004; 35: 1584–8.
63. Hak AE, Stampfer MJ, Campos H, Sesso HD, Gaziano JM, Willett W, et al. Plasma Carotenoids and Tocopherols and Risk of Myocardial Infarction in a Low-Risk Population of US Male Physicians. *Circulation* 2003; 108: 802–7.
64. Hart DJ, Scott KJ. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods and measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem* 1995; 54: 101–11.
65. He FJ, Nowson CA & MacGregor GA. Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies. *Lancet* 2006; 367: 320–6.

66. He FJ, Nowson CA, Lucas M, et al. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens* 2007; 21: 717–28.
67. Herbeth B, Gueguen S, Leroy P, Siest G, Visvikis-Siest S. The lipoprotein lipase serine 447 stop polymorphism is associated with altered serum carotenoid concentrations in the Stanislas Family Study. *J Am Coll Nutr* 2007; 26: 655–62.
68. Herron KL, McGrane MM, Waters D, Lofgren IE, et al. The ABCG5 polymorphism contributes to individual responses to dietary cholesterol and carotenoids in eggs. *J Nutr* 2006; 136: 1161–5.
69. Hirvonen T, Virtamo J, Korhonen P, Albanes D, Pietinen P. Intake of flavonoids, carotenoids, Vitamins C and E, and risk of stroke in male smokers. *Stroke* 2000; 31(10): 2301–6.
70. Howard AN, Williams NR, Palmer CN, Cambou JP, Evans AE, Foote JW, et al. Do hydroxycarotenoids prevent coronary heart disease? A comparison between Belfast and Toulouse. *Int J Vitam Nutr Res* 1996; 66(2): 113–8.
71. Hughes DA. Dietary carotenoids and human immune function. *Nutrition* 2001; 17(10): 823–7.
72. Humphries HJ, Khachik F. Distribution of lutein, zeaxanthin, and related geometrical isomers in fruit, vegetables, wheat, and pasta products. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 1322–7.
73. Iribarren C, Folsom AR, Jacobs DR, et al. Association of serum vitamin levels, LDL susceptibility to oxidation, and autoantibodies against MDA-LDL with carotid atherosclerosis. A case-control study. The ARIC Study Investigators: Atherosclerosis Risk in Communities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1171–7.

74. Ito Y, Kurata M, Suzuki K, Hamajima N, Hishida H, and Aoki K. Cardiovascular disease mortality and serum carotenoid levels: a Japanese population-based follow-up study. *J Epidemiol* 2006; 6(4): 154–60.
75. Yeh ET, Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: Using inflammation markers in cardiology. *Circulation* 2003; 107(3): 370–2.
76. Yonekura L, Nagao A. Intestinal absorption of dietary carotenoids. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51: 107–15.
77. Jakaitienė A., Kučinskis V. Lietuvių populiacijos struktūros įvertinimas pagal etnolingvistines grupes. *Lietuvos statistikos darbai* 2013; 52 (1): 34–8.
78. Jamison J. *Clinical Guide to Nutrition and Dietary Supplements in Disease Management*. Churchill Livingstone, Australia; 2003.
79. Jansen MC, Van Kappel AL, Ocke MC, Van 't Veer P, Boshuizen HC, Riboli E, et al. Plasma carotenoid levels in Dutch men and women, and the relation with vegetable and fruit consumption. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 1386–95.
80. Johnstone SR, Kroncke BM, Straub AC, Best AK, Dunn CA, Mitchell LA, et al. MAPK Phosphorylation of Connexin 43 Promotes Binding of Cyclin E and Smooth Muscle Cell Proliferation. *Circ Res* 2012; 111(2): 201–11.
81. Julia C, Galan P, Touvier M, Meunier N, Papet I, Sapin V, et al. Antioxidant status and the risk of elevated C-reactive protein 12 years later. *Ann Nutr Metab* 2014; 65(4): 289–98.
82. Karppi J, Kurl S, Makikallio TH, Ronkainen K, Laukkanen JA. Serum  $\beta$ -carotene concentrations and the risk of congestive heart failure in men: a population-based study. *Int J Cardiol* 2013; 168(3): 1841–6.
83. Karppi J, Kurl S, Nurmi T, Rissanen TH, Pukkala E, Nyssönen K. Serum Lycopene and the risk of cancer. The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Ann Epidemiol* 2009; 19(7): 512–8.

84. Karppi J, Laukkanen JA, Mäkikallio TH, Ronkainen K, Kurl S. Low  $\beta$ -carotene concentrations increase the risk of cardiovascular disease mortality among Finnish men with risk factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22(10): 921–8.
85. Karppi J, Laukkanen JA, Mäkikallio TH, Ronkainen K, Kurl S. Serum  $\beta$ -carotene and the risk of sudden cardiac death in men: a population-based follow-up study. *Atherosclerosis*. 2013 Jan; 226(1): 172–7.
86. Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, Muir GJ, Zhao DY, Katz NB. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002; 227(10): 845–51.
87. Khoo HE, Prasad KN, Kong KW, Jiang Y, Ismail A. Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules* 2011; 16: 1710–38.
88. Klipstein-Grobusch K, Launer LJ, Geleijnse JM, et al. Serum carotenoids and atherosclerosis: The Rotterdam Study. *Atherosclerosis* 2000; 148: 49–56.
89. Klumbienė J, Petkevičienė J, Tamošiūnas A, Plieskienė A, Misevičienė I, Milašauskienė Ž. Lėtinių neinfekcinių ligų rizikos veiksnių paplitimo pokyčiai 1987 – 1999 metais, *Medicina* 2002; 38: 77–85.
90. Kohlmeier L, Kark JD, Gomez-Gracia E, et al. Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC Study. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 618–26.
91. Kristenson M, Zieden B, Kucinskiene Z, et al. Antioxidant state and mortality from coronary heart disease in Lithuanian and Swedish men: concomitant cross sectional study of men aged 50. *Br Med J* 1997; 314: 629–33.
92. Kruk J, Duchnik E. Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(2): 561–8.

93. Kučinskienė Z. Laisvaradikalinė oksidacija, antioksidacinė gynyba ir ligos. *Laboratorinė medicina* 2001; 1(9): 31–7.
94. Kuijpers MJ, de Witt S, Nergiz-Unal R, van Kruchten R, Korporaal SJ, Verhamme P, et al. Supporting roles of platelet thrombospondin-1 and CD36 in thrombus formation on collagen. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34(6): 1187–92.
95. Landrier JF, Marcotorchino J, Tourniaire F. Lipophilic micronutrients and adipose tissue biology. *Nutrients* 2012; 4: 1622–49.
96. Laucevicius A, Kasiulevicius V, Jatuzis D, Petrulioniene Z, Ryliskyte L, Rinkuniene E, et al. Lithuanian High Cardiovascular Risk (LitHiR) primary prevention programme – rationale and design. *Seminars in Cardiovascular Medicine* 2012; 18: 3.
97. Laucevičius A, Rinkūnienė E, Skorniakov V, Petrulionienė Z, Kasiulevičius V, Jatūžis D, et al. High-risk profile in a region with extremely elevated cardiovascular mortality. *Hellenic J Cardiol* 2013; 54(6): 441–7.
98. Laucevičius A, Rinkūnienė E, Skujaitė A, Petrulionienė Ž, Puronaitė R, et al. Prevalence of cardiovascular risk factors in Lithuanian middle-aged subjects participating in the primary prevention program, analysis of the period 2009-2012. *Blood Press* 2015; 24(1): 41–7.
99. Leung WC, Hessel S, Meplan C, Flint J, Oberhauser V, Tourniaire F, et al. Two common single nucleotide polymorphisms in the gene encoding beta-carotene 15,15'-monooxygenase alter betacarotene metabolism in female volunteers. *FASEB J* 2009; 23: 1041–53.
100. Li C, Ford ES, Zhao G, Balluz LS, Giles WH, Liu S. Serum  $\alpha$ -carotene concentrations and risk of death among US adults: the third national health and nutrition examination survey follow-up study. *Arch Intern Med* 2011; 171(6): 507–15.



101. Lietuvos gyventojų sveikata ir sveikatos priežiūros įstaigų veikla 2014 m. Higienos instituto Sveikatos informacijos centras. Vilnius, 2015. 132 p.
102. Lobo V, Patil A, Phatak A, and Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Can J Cardiol* 2015; 31(5): 631–41.
103. Lobo MV, Huerta L, Ruiz-Velasco N, Teixeira E, et al. Localization of the lipid receptors CD36 and CLA-1/SR-BI in the human gastrointestinal tract: towards the identification of receptors mediating the intestinal absorption of dietary lipids. *J. Histochem. Cytochem* 2001; 49: 1253–60.
104. Maiani G, Caston MJP, Catasta G, Toti E, Cambrodón IG, Bysted A, et al. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(2): 194–218.
105. Maiani G, Mobarhan S, Ceccanti M, Ranaldi L, Gettner S, Bowen P, et al. Beta-carotene serum response in young and elderly females. *Eur J Clin Nutr* 1989; 43: 749–61.
106. Marin A, Ferreres F, Tomas-Barberan FA, Gil MI. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Agric Food Chem* 2004; 52: 3861–9.
107. Matsumoto A, Mizukami H, Mizuno S, Umegaki K, Nishikawa J, Shudo K, et al. beta-Cryptoxanthin, a novel natural RAR ligand, induces ATP-binding cassette transporters in macrophages. *Biochem Pharmacol* 2007; 74: 256–64.
108. Mažeikienė A, Kučinskienė ZA, Noreika R. Likopeno suvartojimas, jo koncentracija kraujo plazmoje ir ryšys su 61–62 metų vyrų aterosklerozės rizikos veiksniais. *Laboratorinė medicina* 2008; 10(3): 139–45.
109. McKay GJ, Loane E, Nolan JM, Patterson CC, Meyers KJ, Mares JA, et al. Investigation of genetic variation in scavenger receptor class B, member

- 1 (SCARB1) and association with serum carotenoids. *Ophthalmology* 2013; 120(8): 1632–40.
110. Meensa M, Pfennigera A, Kwaka BR. Risky communication in atherosclerosis and thrombus formation. *Swiss Med Wkly* 2012; 142: w13553.
111. Minami Y, Kawabata K, Kubo Y, Arase S, Hirasaka K, Nikawa T, et al. Peroxidized cholesterol induced matrix metalloproteinase-9 activation and its suppression by dietary beta-carotene in photoaging of hairless mouse skin. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 389–98.
112. Mirties priežastys 2014. Higienos instituto Sveikatos informacijos centras, Vilnius, 2015. 190 p.
113. Myung SK, Ju W, Cho B, Oh SW, Park SM, Koo BK, et al. Efficacy of vitamin and antioxidant supplements in prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2013; 18; 346: f10.
114. Mohn A, Catino M, Capanna R, Giannini C, Marcovecchio M, Chiarelli F. Increased oxidative stress in prepubertal severely obese children: effect of a dietary restriction-weight loss program. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2653–8.
115. Montezano AC, Dulak-Lis M, Tsiropoulou S, Harvey A, Briones AM, Touyz RM. Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. *Pharmacogn Rev* 2010; 4(8): 118–26.
116. Moran NE, Erdman JW Jr, Clinton SK. Complex interactions between dietary and genetic factors impact lycopene metabolism and distribution. *Arch Biochem Biophys* 2013; 539(2): 171–80.
117. Moussa M, Gouranton E, Gleize B, Yazidi CE, Niot I, Besnard P, Borel P, Landrier JF. CD36 is involved in lycopene and lutein uptake by adipocytes and adipose tissue cultures. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 578–84.

118. Nagao A. Absorption and metabolism of dietary carotenoids. *Biochem Mol Biol Educ* 2011; 37(2): 83–7.
119. Namitha KK, Negi PS. Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50: 728–60.
120. O’Neill ME, Carroll Y, Corridan B, et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *British J of Nutr* 2001; 85: 499–507.
121. Olmedilla, B, Granada F, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. Seasonal and sex-related variations in six serum carotenoids, retinol, and alpha-tocopherol, *Am. J. Clin. Nutr* 1994; 60: 106–10.
122. Olmedilla B, Granada F, Rojas-Hidalgo E, Blanco I. A rapid separation of ten carotenoids, three retinoids, alpha-tocopherol and d-alpha-tocopherol acetate by high performance liquid chromatography and its application to serum and vegetable samples *J Liq Chromatogr* 1990; 13(8): 1455–83.
123. Omen GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N England J Med* 1996; 334: 1150–55.
124. Ortega H, Castilla P, Gomez-Coronado D, Garcés C, Benavente M, Rodríguez-Artalejo F, et al. Influence of apolipoprotein E genotype on fat-soluble plasma antioxidants in Spanish children. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 624–32.
125. Osganian SK, Stampfer MJ, Rimm E, et al. Dietary carotenoids and risk of coronary artery disease in women. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1390–9.
126. Palozza P, Simone R, Catalano A, Boninsegna A, Böhm V, Fröhlich K, et al. Lycopene prevents 7-ketocholesterol-induced oxidative stress, cell cycle arrest and apoptosis in human macrophages. *J Nutr Biochem* 2010; 21(1): 34–46.

127. Paran E. Reducing hypertension with tomato lycopene. *Tomatoes, lycopene and human health*. Caled Scienc Press 2006; 169–82.
128. Piotrowska A, Bartnik E. The role of reactive oxygen species and mitochondria in aging. *Postepy Biochem* 2014; 60(2): 240–7.
129. Porrini M, Riso P. What are typical lycopene intakes? *J Nutr* 2005; 135(8): 2042S–5S.
130. Rao AV, Balachandran B. Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases. *Nutr Neurosci* 2003; 5(5): 291–309.
131. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharmacol Res* 2007; 55(3): 207–16.
132. Reboul E. Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: focus on transport proteins. *Nutrients* 2013; 5(9): 3563–81.
133. Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB. Influence of dietary fat on beta-carotene absorption and bioconversion into vitamin A. *Nutr Rev* 2002; 60(4): 104–10.
134. Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB. Lutein and zeaxanthin and their potential roles in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 2004; 23(6): 567S–587S.
135. Riccioni G, D’Orazio N, Speranza L, Di Ilio E, Glade M, Bucciarelli V, et al. Carotenoids and asymptomatic carotid atherosclerosis. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2010; 24(4): 447–52.
136. Riccioni G, Speranza L, Pesce M, Cusenza S, D’Orazio N, Glade MJ. Novel phytonutrient contributors to antioxidant protection against cardiovascular disease. *Nutrition* 2012; 28: 605–10.
137. Rinkūnienė E, Laucevičius A, Petrulionienė Ž, Badarienė J. Lietuvos didelės kardiovaskulinės rizikos pacientų atrankos ir prevencinių priemonių (LitHir) programos rezultatai: dislipidemijos paplitimas tarp vidutinio amžiaus suaugusių Lietuvos gyventojų. *Medicinos teorija ir praktika* 2012; 18 (4.2): 636–42.

138. Rinkūnienė E, Petrulionienė Ž, Zdanevičiūtė I, Dženkevičiūtė V. Mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų tendencijos Lietuvoje ir Europos šalyse. *Medicinos teorija ir praktika* 2013; 19(2): 130–6.
139. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssönen K, et al. Low serum lycopene concentration is associated with an excess incidence of acute coronary events and stroke: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Br J Nutr* 2001; 85: 743–54.
140. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssönen K, et al. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischemic Heart disease risk factor study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 133–138.
141. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssönen K, et al. Low plasma lycopene concentration is associated with increased intima media thickness of the carotid artery wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2677–2681.
142. Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssönen K, et al. Low serum lycopene concentration is associated with an excess incidence of acute coronary events and stroke: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Br J Nutr* 2001; 85: 749–54.
143. Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssönen K, Salonen R, Kaplan GA, Salonen JT. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 133–8.
144. Rydeń PM, Kristenson GM, Leanderson P, Ernerudh J, Jonasson L. Provitamin A carotenoids are independently associated with matrix metalloproteinase-9 in plasma samples from a general population *J Intern Med* 2012; 272: 371–84.
145. Roberts RL, Green J, Lewis B. Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clin Dermatol* 2009; 27(2): 195–201.
146. Rodriguez-Amaya DB, Kumura M. HarvestPlus Handbook for carotenoid analysis. HarvestPlus Technical Monograph 2. Washington, DC and Cali:

- International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT); 2004.
147. Rodriguez-Amaya DB, Rodriguez EB. Advances in food carotenoid research: Chemical and technological aspects, implications in human health. *Mal J Nutr* 2006; 12(1): 101–21.
148. Rodriguez-Amaya DB. A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press; 2001.
149. Roodenburg AJ, Leenen R, van het Hof KH, Weststrate JA, Tijburg LB. Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but not of alpha-carotene, beta-carotene, and vitamin E in humans *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1029–30.
150. Semba RD, Lauretani F, Ferrucci, L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults. *Arch Biochem Biophys* 2007; 458(2): 141–5.
151. Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, et al. Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(5): 990–7.
152. Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, Gaziano JM. Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr* 2004; 79(1): 47–53.
153. Sesso HD, Liu S, Gaziano JM, et al. Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women. *J Nutr* 2003; 133: 2336–41.
154. Sesso HD, Wang L, Ridker PM, Buring JE. Tomato-based food products are related to clinically modest improvements in selected coronary biomarkers in women. *J Nutr* 2012; 142: 326–33.
155. Slimen IB, Najjar T, Ghram A, Dabbebi H, Ben Mrad M, Abdrabbah M. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. *Int J Hyperthermia* 2014; 30(7): 513–23.
156. Street DA, Comstock GW, Salkeld RM, Schuap W, Klag MJ. Serum antioxidants and myocardial infarction: are low levels of carotenoids and

- $\alpha$ -tocopherol risk factors for myocardial infarction?" *Circulation* 1994; 90(3): 1154–61.
157. Sugiura M, Nakamura M, Ogawa K, Ikoma Y, Matsumoto H, Ando F, et al. Synergistic interaction of cigarette smoking and alcohol drinking with serum carotenoid concentrations: findings from a middle-aged Japanese population. *Br J Nutr* 2009; 102(8): 1211–9.
158. Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. Cancer Chemoprevention by Carotenoids. *Molecules* 2012; 17: 3202–42.
159. Tavani A, Gallus S, Negri E, et al. Dietary intake of carotenoids and retinol and the risk of acute myocardial infarction in Italy. *Free Radic Res* 2006; 40: 659–64.
160. Terao J, Minami Y, Bando N. Singlet molecular oxygen-quenching activity of carotenoids: relevance to protection of the skin from photoaging. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 57–62.
161. Terpstra V, van Amersfoort ES, van Velzen AG, Kuiper J, van Berkel TJ. Hepatic and extrahepatic scavenger receptors: function in relation to disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1860–72.
162. Tian R, Pitchford WS, Morris CA, Cullen NG, Bottema CD. Genetic variation in the beta, beta-carotene-9', 10'-dioxygenase gene and association with fat colour in bovine adipose tissue and milk. *Anim Genet* 2009; 41: 253–9.
163. Tsang C, Higgins S, Duthie GG, Duthie SJ, Howie M, Mullen W, et al. The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *Br J Nutr* 2005; 93(2): 233–40.
164. Tutkuvienė J, Jakimavičienė EM. Kūno sudėjimo rodikliai ir jų sąsajos su bendra sveikatos būkle. *Medicinos teorija ir praktika* 2004; (37): 59–63.
165. Vage DI, Boman IA. A nonsense mutation in the betacarotene oxygenase 2 (BCO2) gene is tightly associated with accumulation of carotenoids in

- adipose tissue in sheep (*Ovis aries*). *Biomed Chromatogr Genet* 2010; 11: 10.
166. van Bennekum A, Werder M, Thuahnai ST, Han CH, et al. Class B scavenger receptor-mediated intestinal absorption of dietary beta-carotene and cholesterol. *Biochemistry (Mosc.)* 2005; 44: 4517–25.
167. van Het Hof KH, West CE, Weststrate JA, et al. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *J Nutr* 2000; 130: 503–6.
168. Vaugoyeau M, Decencière B, Perret S, Karadas F, Meylan S, Biard C. Is oxidative status influenced by dietary carotenoid and physical activity after moult in the great tit (*Parus major*)? *J Exp Biol* 2015; 218(Pt 13): 2106–15.
169. Vollbach H, Heun R, Morris CM, Edwardson JA, McKeith IG, Jessen F, et al. APOA1 polymorphism influences risk for early-onset nonfamilial AD. *Ann Neurol* 2005; 58(3): 436–41.
170. Wang W, Connor SL, Johnson EJ, Hautvast JG. Effect of dietary lutein and zeaxanthin on plasma carotenoids and their transport in lipoproteins in age-related macular degeneration. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 762–9.
171. Wolak T, Paran E. Can carotenoids attenuate vascular aging? *Vascul Pharmacol* 2013; 59(3–4): 63–6.
172. Zadak Z, Hyšpler R, Ticha A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, et al. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res* 2009; 58 (1): 13–17.
173. Zou Z, Xu X, Huang Y, Xiao X, Ma L, Sun T, et al. High serum level of lutein may be protective against early atherosclerosis: the Beijing atherosclerosis study. *Atherosclerosis* 2011; 219: 789–93.



## **DARBO APROBACIJA**

Darbo rezultatai yra paskelbti recenzuojamuose mokslo leidiniuose, pristatyti Lietuvos ir užsienio mokslinėse konferencijose.

### **Publikacijos disertacijos tema (3)**

1. Asta Mažeikienė. Karotenoidų struktūros ir apykaitos ypatumai, biologinio veikimo mechanizmai ir nauda žmogaus sveikatai. *Laboratorinė medicina* ISSN 1392-6470; 2013, 15 tomas, Nr. 2(58), p. 88–98.
2. Mažeikienė A., Jakaitienė A., Karčiauskaitė D., Kučinskienė Z.A., Abaravičius J.A., Kaminskas A., Kučinskas V. Dietary lycopene and cardiovascular health in ethnic Lithuanians. *Acta Medica Lituanica* 2015, Vol. 22, No. 4, p. 179–190.
3. Asta Mažeikienė, Žydrūnas Daunoravičius, Zita Aušrelė Kučinskienė. Serumo karotenoidų kiekio tyrimas ir sąsajos su gyvensenos bei demografiniais veiksniais lietuvių populiacijoje. *Laboratorinė medicina* ISSN 1392-6470; 2015, 17 tomas, Nr. 3(67), p. 95–102.

### **Žodiniai pranešimai disertacijos tema (6)**

1. Mažeikienė A., Kučinskienė Z. A. Comparison of the nutritional habits and biochemical parameters among members of the families with or without anamnestic data of common noninfectious diseases. Frydricho Šilerio universiteto Mitybos mokslų institutas, 2012 m. birželio 13 d., Jena, Vokietija.
2. Asta Mažeikienė. Karotenoidai: paplitimas, svarba ir tyrimo metodai. Likopeno ryšys su širdies ir kraujagyslių sistemos ligomis. Mokslinė-

praktinė konferencija „VU MF FBMLM katedros mokslo darbai: dabartis ir ateities perspektyvos“, VU MF, Lietuvos Laboratorinės medicinos draugija, 2012 m. gruodžio 6 d., Vilnius, Lietuva.

3. Asta Mažeikienė. Why lycopene is beneficial against cardiovascular diseases? 6-asis Baltijos šalių atrosklerozės kongresas, 2013 m. spalio 11–12 d., Ryga, Latvija.
4. Asta Mažeikienė. Investigation of blood serum carotenoids in the ethiopathogenesis of chronic noninfectious diseases. 12-asis Baltijos šalių laboratorinės medicinos kongresas, 2014 m. rugsėjo 18–20 d., Ryga, Latvija.
5. Asta Mažeikienė. Karotenoidai: jų svarba, tyrimo metodai ir vertinimas lietuvių populiacijoje. Projekto LITGEN – „Lietuvos populiacijos genetinė įvairovė ir sandaros kitimai, susiję su evoliucija ir dažniausiai paplitusiomis ligomis“ – seminaras „Naujos kartos viso žmogaus genomo sekos tyrimai – pirmieji žingsniai Lietuvoje“; 2014 m. gruodžio 12 d., Vilnius, Lietuva.
6. Asta Mažeikienė. Karotenoidai: nuo mitybos iki genetikos. Konferencija LITGEN: Lietuvos populiacijos genetinė įvairovė ir sandaros kitimai, susiję su evoliucija ir dažniausiai paplitusiomis ligomis. 2015 m. kovo 6 d., Vilnius, Lietuva.

### **Stendiniai pranešimai ir tezės, pateiktos konferencijose (11)**

1. Mažeikienė A., Jakaitienė A., Arasimavičius J., Domarkienė I., Uktverytė I., Ambrozaitytė L., Kučinskienė Z. A., Kučinskas V. Association of serum carotenoid concentrations with single nucleotide polymorphisms in *APOE*, *BCMO1*, *HL* and *FABP* genes. 2014 m. birželio 29–liepos 4 d., 17-asis tarptautinis karotenoidų simpoziumas, Park City, Juta, JAV. Carotenoid science. Volume 18, June 2014, p. 129. ISSN 1880-5671.

2. Burokienė N., Mažeikienė A., Karčiauskaitė D., Miklošiūtė V., Daunoravičius Ž., Kučinskienė Z. A. Serum malondialdehyde concentration and its relation to cardiovascular risk markers and morbidity in Lithuanian population. 2015 m. gegužės 23–26 d., 7-asis tarptautinis aterosklerozės simpoziumas, Amsterdamas, Olandija. Prieiga internete:  
<http://www.isa-2015.com/wp-content/uploads/2015/05/ISA-2015-abstracts-501-750.pdf>
3. Mažeikienė A., Kučinskienė Z. A., Kučinskas V. Serum carotenoid concentrations in ethnic lithuanians. Abstract book of the international conference „Evolutionary medicine: perspectives in understanding health and disease“ 27th–30th of May, Vilnius, Lithuania, 2014, p. 76.
4. Burokienė N., Mažeikienė A., Karčiauskaitė D., Kučinskienė Z. A. impact of risk factors on cardiovascular disease in general Lithuanian population. 2014 m. liepos 2–5 d. 19-oji Europos pasaulinės šeimos gydytojų organizacijos (WONCA) konferencija; Lisabona, Portugalija. Abstract book, p. 563.
5. Karčiauskaitė D., Mažeikienė A., Burokienė N., Kučinskienė Z. A. Impact of psychosocial stress and other risk factors on cardiovascular morbidity in lithuanian population. Atherosclerosis. ISSN 0021-9150 2014, vol. 235, iss. 2, p. e116.
6. Mažeikienė A., Kučinskienė Z.A., Kučinskas V. Association between serum lycopene concentration and cardiovascular morbidity. 6-asis Baltijos šalių aterosklerozės kongresas, 2013 m. spalio 11–12 d., Ryga, Latvija; Abstract book, p. 13.
7. Mažeikienė A., Jakaitienė A., Kučinskienė Z. A., V. Kučinskas V. Investigation of lycopene intake in the different Lithuanian ethnolinguistic

- groups. Tarptautinės mitybos mokslų draugijos 20-asis Tarptautinis mitybos kongresas. IUNS 20th International Congress of Nutrition, 2013 Granada, Spain, September 15–20. *Ann Nutr Metab* 63(suppl 1) 1–1960 (2013), p. 1225. e-ISBN 978–3–318–02516–3 print ISSN 0250–6807; online e-ISSN 1421–9697.
8. Mažeikienė A., Burokienė N., Karčiauskaitė D., Kučinskienė Z. A. Relation between family history of common chronic diseases, nutritional habits and blood biochemical parameters. 2013 m. gegužės 18–24 d. 20-asis Tarptautinės ir Europos klinikinės chemijos ir laboratorinės Medicinos federacijų (IFCC-EFLM) Europos klinikinės chemijos ir laboratorinės medicinos kongresas (EUROMEDLAB), Milan, Italija. *Biochimica clinica*, Special supplement (SS); 2013 Abstracts volume (vol. 37), ISSN 0393-0564. S593.
9. Karčiauskaitė D., Mažeikienė A., Burokienė N., Kučinskienė Z. A. Impact of anxiety and depression on biochemical blood parameters in general Lithuanian population: Stendinis pranešimas; 2013 m. birželio 1–6 d. 81-asis Europos aterosklerozės draugijos kongresas (EAS), Lionas, Prancūzija. Prieiga internete:  
<http://w3.kenesgroup.com/apps/eas2013/abstracts/Index.htm>
10. Uktverytė I., Meškienė R., Ambrozaitytė L., Domarkienė I., Pranculis A., Burokienė N., Coj A., Mažeikienė A., Kasiulevičius V., Kučinskienė Z. A., Kučinskis V. LITGEN – revealing genetic structure of the population of Lithuania. Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija, 2013 m. birželio 8–11 d. Paryžius, Prancūzija. *European journal of human genetics*. Vol. 21 Suppl. 2, June 2013, p. 394.

11. Mažeikienė A., Burokienė N., Kučinskienė Z. A. Nutritional habits and prevalence of the multiple cardiovascular risk factors among children and young adults. Abstract book of the international conference „Evolutionary medicine: new solutions for the old problems“ 12th–15th June, Vilnius, Lithuania, 2012, p. 61.

## **PADĖKA**

Didžiausia padėka mokslinei vadovei profesorei Zitai Aušrelei Kučinskienei – už visa ko pradžia bei už visas suteiktas progas ir galimybes, už savo pavyzdžiu įskiepytą pagarbą darbui, už pasitikėjimą, patarimus ir nuolatinį palaikymą.

Profesoriui Vaidučiui Kučinskui – už galimybę dalyvauti moksliniame projekte, realizuoti mokslo idėją, vertingus mokslinius patarimus ir skatinimą tobulėti.

Dr. Volkeriui Böhmui ir visam Vokietijos Frydricho Šilerio universiteto Mitybos mokslų instituto Augalų biologiškai aktyvių junginių tyrimo grupės kolektyvui – už galimybę išmokti, šiltą bendravimą ir patarimus.

Docentei Audronei Jakaitienei – už konsultacijas ir palaikymą atliekant statistinę duomenų analizę.

Dr. Žydrūnui Daunoravičiui už nuoširdžią pagalbą įdiegiant ESCh metodą.

Gydytojai Neringai Burokienei, dr. Dovilei Karčiauskaitei ir visam LITGEN projekto darbuotojų kolektyvui už bendradarbiavimą ir kolegiškumą.

VU MF ŽMGK kolektyvui ir ypač dr. Ingridai Domarkienei už atliktus genotipo tyrimus ir pagalbą juos analizuojant.

Mano šeimai – už palaikymą, supratimą kantrybę.

Taip pat visiems mieliems kolegoms, kurie tiesiogiai ar netiesiogiai prisidėjo prie disertacijos rengimo, – už nuoširdų palaikymą.

## PRIEDAI

### 1 priedas. Tyrime dalyvavusių pirminės sveikatos priežiūros centrų sąrašas

<b>Istaigos pavadinimas</b>	<b>Miestas</b>	<b>Adresas</b>
VšĮ Anykščių r. pirminės sveikatos priežiūros centras	Anykščiai	V. Kudirkos g. 3, Anykščiai
VšĮ Elektrėnų pirminės sveikatos priežiūros centras	Elektrėnai	Taikos g. 6, Elektrėnai
UAB Ignalinos sveikatos centras	Ignalina	Ligoninės g. 13A, Ignalina
Viečiūnų ambulatorija	Viečiūnai	Verpėjų g. 11, Viečiūnai, Druskininkų raj.
VšĮ Aukštaičių šeimos klinika	Panevėžys	Aukštaičių g. 4, Panevėžys
Pajstrio bendrosios praktikos gydytojo kabinetas	Pajstrys	Gegužinės g. 28, Pajstrys, Panevėžio r.
VšĮ Raseinių pirminės sveikatos priežiūros centras	Raseiniai	Žemaitės g. 2, Raseiniai
Kėdainių pirminės sveikatos priežiūros centras	Kėdainiai	Budrio g. 5, Kėdainiai
Rokiškio pirminės sveikatos priežiūros centras	Rokiškis	Juodupės g. 1A, Rokiškis
Kidulių ambulatorija	Kiduliai	Nemuno g. 66, Kiduliai, Šakių raj.
VšĮ Alytaus rajono savivaldybės pirminės sveikatos priežiūros centras	Alytus	Naujoji g. 48, Alytus
UAB Antano Lizdenio sveikatos centras	Naujoji Akmenė	Respublikos g. 32, Naujoji Akmenė
Rimanto Barono pirminės sveikatos priežiūros centras	Marijampolė	Palangos g. 1, Marijampolė
VšĮ Dainų pirminės sveikatos priežiūros centras	Šiauliai	Aido g. 18, Šiauliai
VšĮ Šilutės pirminės sveikatos priežiūros centras	Šilutė	Rusnės g. 1, Šilutė
VšĮ Birštono pirminės sveikatos priežiūros centras	Birštonas	Jaunimo g. 8, Birštonas
VšĮ Palangos pirminės asmens sveikatos priežiūros centras	Palanga	Vytauto g. 92, Palanga

VšĮ Molėtų šeimos sveikatos centras	Molėtai	Vilniaus g. 76, Molėtai
VšĮ Tauragės šeimos medicinos centras	Tauragė	Spaustuvės g. 4, Tauragė
UAB Lazdijų sveikatos centras	Lazdijai	Kauno g. 8A, Lazdijai
UAB Telšių šeimos klinika	Telšiai	Respublikos g. 38, Telšiai
VšĮ Varnių pirminės sveikatos priežiūros centras	Varniai	Ligoninės g. 3, Varniai, Telšių raj.
Priekulės PSPC	Priekulė	Klaipėdos g. 14, Priekulė
IĮ Šeimos sveikatos centras	Mažeikiai	J. Basanavičiaus g. 22, Mažeikiai
VšĮ Molėtų šeimos sveikatos centras	Molėtai	Vilniaus 76 g., Molėtai
VšĮ Šilalės PSPC	Šilalė	Vytauto Didžiojo g. 19, Šilalė
UAB Medica klinika	Gargždai	Klaipėdos g. 17A, Gargždai
VšĮ Kelmės raj. bendrosios praktikos gydytojų centras	Kelmė	A.Mackevičiaus g. 10, Kelmė
Skuodo pirminės sveikatos priežiūros centras	Skuodas	Šatrijos g. 5, Skuodas



## 2 priedas. Leidimo atlikti biomedicininį tyrimą kopija



### VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS

Kodas 211950810, M.K.Čiurlionio 21/27, 03101, Vilnius Tel.(85)2398701, 2398700, faks.2398705, El.p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS  
M.K.Čiurlionio 21/27, LT-03101, Vilnius Tel.(85) 2686998, el.p.: rbtek@mf.vu.lt

# LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ

2011-05-03 Nr.158200-05-329-79

Biomedicininio tyrimo pavadinimas:

**Lietuvos populiacijos genetinė įvairovė ir sandaros kitimai, susiję su evoliucija ir dažniausiai paplitusiomis ligomis**

Protokolo Nr.: LITGEN01

Versija: 01

Data: 2011.04.01

Asmens informavimo forma ir Informuoto asmens sutikimo forma suaugusiems tiriamiesiems asmenims (lietuvių kalba):

Versija: 04

Data: 2011.05.02

Asmens informavimo forma ir Informuoto asmens sutikimo forma nepilnamečio tiriamojo tėvams/globėjams (lietuvių kalba):

Versija: 02

Data: 2011.05.02

Asmens informavimo forma nepilnamečiams asmenims (lietuvių kalba):

Versija: 02

Data: 2011.05.02

Pagrindinis tyrėjas: V.Kučinskas

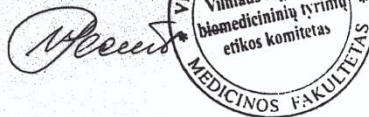
Biomedicininio tyrimo vieta:

Įstaigos pavadinimas: Vilniaus universitetinės ligoninės Santariškių klinikų Medicininės genetikos centras  
Įstaigos adresas: Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2011/05), vykusio 2011 m. gegužės 03 d., sprendimu.

Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų etikos komiteto ekspertų grupės nariai			
Nr.	Vardas, pavardė	veiklos sritis	dalyvavo posėdyje
1	doc. Dr. Laimutė Jakavonytė	filosofija	taip
2	doc. Dr. Kęstutis Žagminas	epidemiologija	taip
3	dr. Indrė Isokaitė	teisė	ne
4	dr. Marija Veniūtė	visuomenės sveikata	taip
5	doc.dr. Jolanta Gulbinovič	medicina	taip
6	prof.dr. Vytautė Pečiulienė	medicina, onkologija	taip
7	Laura Malinauskienė	medicina	taip
8	dr. Gražina Pastavkaitė	klinikinė psichologija	ne
9	Ugnė Šakūnienė	pacientų teisės	taip

Pirmininkė



Vytautė Pečiulienė

**3 priedas.** Nustatyti VNP genotipai (GN) ir jų dažniai pavienių karotenoidų kvartiluose tirtoje bendroje populiacijoje (B) bei vyrų (V) ir moterų (M) grupėse

		Liuteinas + zeaksantinas											
		V				M				B			
VNP	GN	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4
rs7202895	A/A	0.92	0.93	0.94	0.92	0.79	0.92	1.00	0.97	0.84	0.93	0.96	0.94
	G/A	0.08	0.07	0.06	0.04	0.21	0.08	0.00	0.03	0.16	0.07	0.04	0.04
	G/G	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
rs6720173	C/C	0.79	0.83	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.85	0.89	0.72
	G/C	0.17	0.10	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.09	0.11	0.28
	G/G	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs2278357	C/C	0.79	0.83	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.85	0.89	0.72
	T/C	0.17	0.10	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.09	0.11	0.28
	T/T	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs4148195	G/G	0.79	0.80	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.83	0.89	0.72
	A/G	0.17	0.13	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.11	0.11	0.28
	A/A	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs7188650	0/0	0.92	0.97	0.84	0.75	0.94	1.00	0.80	0.76	0.93	0.98	0.82	0.75
	C/C	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02
	C/T	0.08	0.03	0.06	0.08	0.06	0.00	0.12	0.00	0.07	0.02	0.09	0.04
	T/T	0.00	0.00	0.06	0.13	0.00	0.00	0.08	0.24	0.00	0.00	0.07	0.19
rs3211958	A/A	0.13	0.30	0.48	0.25	0.18	0.38	0.52	0.24	0.16	0.33	0.50	0.25
	G/A	0.63	0.37	0.42	0.46	0.52	0.33	0.44	0.55	0.56	0.35	0.43	0.51
	2	0.25	0.33	0.10	0.29	0.30	0.29	0.04	0.21	0.28	0.31	0.07	0.25
	G/G	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
rs3211956	T/T	0.67	0.70	0.97	0.83	0.79	0.71	0.88	0.93	0.74	0.70	0.93	0.89
	G/T	0.29	0.30	0.03	0.17	0.21	0.29	0.12	0.07	0.25	0.30	0.07	0.11
	G/G	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
rs3211931	C/C	0.13	0.30	0.48	0.25	0.18	0.38	0.52	0.24	0.16	0.33	0.50	0.25
	T/C	0.63	0.37	0.42	0.46	0.55	0.33	0.44	0.55	0.58	0.35	0.43	0.51
	T/T	0.25	0.33	0.10	0.29	0.27	0.29	0.04	0.21	0.26	0.31	0.07	0.25
rs3211908	C/C	0.67	0.77	0.94	0.83	0.82	0.71	0.92	0.93	0.75	0.74	0.93	0.89
	T/C	0.29	0.23	0.06	0.17	0.15	0.29	0.08	0.07	0.21	0.26	0.07	0.11
	T/T	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00

rs3211885	C/C	0.13	0.27	0.42	0.33	0.12	0.46	0.44	0.28	0.12	0.35	0.43	0.30
	T/C	0.79	0.50	0.48	0.46	0.67	0.33	0.36	0.59	0.72	0.43	0.43	0.53
	T/T	0.08	0.23	0.10	0.21	0.21	0.21	0.20	0.14	0.16	0.22	0.14	0.17
rs3173798	T/T	0.63	0.77	0.87	0.83	0.82	0.67	0.92	0.93	0.74	0.72	0.89	0.89
	C/T	0.33	0.23	0.13	0.17	0.15	0.33	0.08	0.07	0.23	0.28	0.11	0.11
	C/C	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1049654	C/C	0.13	0.27	0.39	0.29	0.12	0.42	0.44	0.24	0.12	0.33	0.41	0.26
	A/C	0.79	0.47	0.52	0.50	0.67	0.38	0.36	0.55	0.72	0.43	0.45	0.53
	A/A	0.08	0.27	0.10	0.21	0.21	0.21	0.20	0.21	0.16	0.24	0.14	0.21
rs3212160	C/C	0.13	0.27	0.39	0.29	0.12	0.38	0.44	0.24	0.12	0.31	0.41	0.26
	A/C	0.79	0.47	0.52	0.50	0.67	0.42	0.36	0.55	0.72	0.44	0.45	0.53
	A/A	0.08	0.27	0.10	0.21	0.21	0.21	0.20	0.21	0.16	0.24	0.14	0.21
rs1534314	G/G	0.67	0.77	0.87	0.83	0.82	0.67	0.92	0.93	0.75	0.72	0.89	0.89
	A/G	0.29	0.23	0.13	0.17	0.15	0.33	0.08	0.07	0.21	0.28	0.11	0.11
	A/A	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1334511	A/A	0.67	0.77	0.87	0.83	0.82	0.67	0.92	0.93	0.75	0.72	0.89	0.89
	G/A	0.29	0.23	0.13	0.17	0.15	0.33	0.08	0.07	0.21	0.28	0.11	0.11
	G/G	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs4545029	G/G	0.13	0.27	0.39	0.29	0.12	0.38	0.44	0.24	0.12	0.31	0.41	0.26
	T/G	0.79	0.47	0.52	0.50	0.64	0.42	0.32	0.55	0.70	0.44	0.43	0.53
	T/T	0.08	0.27	0.10	0.21	0.24	0.21	0.24	0.21	0.18	0.24	0.16	0.21
rs1722504	C/C	1.00	0.97	1.00	0.96	1.00	0.96	1.00	0.90	1.00	0.96	1.00	0.92
	T/C	0.00	0.03	0.00	0.04	0.00	0.04	0.00	0.10	0.00	0.04	0.00	0.08
rs1194180	A/A	1.00	0.97	1.00	0.96	1.00	0.96	1.00	0.90	1.00	0.96	1.00	0.92
	G/A	0.00	0.03	0.00	0.04	0.00	0.04	0.00	0.10	0.00	0.04	0.00	0.08
rs6720173	C/C	0.79	0.83	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.85	0.89	0.72
	G/C	0.17	0.10	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.09	0.11	0.28
	G/G	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs2278357	C/C	0.79	0.83	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.85	0.89	0.72
	T/C	0.17	0.10	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.09	0.11	0.28
	T/T	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs4148195	G/G	0.79	0.80	0.90	0.63	0.73	0.88	0.88	0.79	0.75	0.83	0.89	0.72
	A/G	0.17	0.13	0.10	0.38	0.24	0.08	0.12	0.21	0.21	0.11	0.11	0.28
	A/A	0.04	0.07	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.00
rs3211830	C/C	0.67	0.77	0.87	0.83	0.82	0.67	0.92	0.93	0.75	0.72	0.89	0.89
	T/C	0.29	0.23	0.13	0.17	0.15	0.33	0.08	0.07	0.21	0.28	0.11	0.11
	T/T	0.04	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00

		$\beta$ -kriptoksantinas											
		V				M				B			
VNP	GN	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4
rs9924126	A/A	0.17	0.26	0.37	0.20	0.24	0.41	0.39	0.14	0.20	0.33	0.38	0.16
	G/A	0.63	0.41	0.37	0.75	0.52	0.37	0.36	0.57	0.59	0.39	0.36	0.64
	G/G	0.20	0.33	0.26	0.05	0.24	0.22	0.25	0.29	0.21	0.28	0.25	0.20
rs3173798	T/T	0.71	0.85	0.67	0.95	0.90	0.85	0.75	0.86	0.79	0.85	0.71	0.89
	C/T	0.26	0.15	0.33	0.05	0.05	0.15	0.25	0.14	0.18	0.15	0.29	0.11
	C/C	0.03	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs3211830	C/C	0.74	0.85	0.67	0.95	0.90	0.85	0.75	0.86	0.80	0.85	0.71	0.89
	T/C	0.23	0.15	0.33	0.05	0.05	0.15	0.25	0.14	0.16	0.15	0.29	0.11
	T/T	0.03	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1534314	G/G	0.74	0.85	0.67	0.95	0.90	0.85	0.75	0.86	0.80	0.85	0.71	0.89
	A/G	0.23	0.15	0.33	0.05	0.05	0.15	0.25	0.14	0.16	0.15	0.29	0.11
	A/A	0.03	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1334511	A/A	0.74	0.85	0.67	0.95	0.90	0.85	0.75	0.86	0.80	0.85	0.71	0.89
	G/A	0.23	0.15	0.33	0.05	0.05	0.15	0.25	0.14	0.16	0.15	0.29	0.11
	G/G	0.03	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
		$\beta$ -karotenas											
		V				M				B			
VNP	GN	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4
rs1799883	C/C	0.55	0.47	0.52	0.56	0.53	0.46	0.52	0.46	0.54	0.46	0.52	0.49
	T/C	0.35	0.53	0.43	0.31	0.35	0.54	0.45	0.38	0.35	0.54	0.44	0.36
	T/T	0.10	0.00	0.05	0.13	0.12	0.00	0.03	0.16	0.11	0.00	0.04	0.15
rs4148179	A/A	0.38	0.50	0.27	0.29	0.35	0.38	0.39	0.31	0.37	0.44	0.35	0.30
	G/A	0.55	0.40	0.41	0.35	0.47	0.63	0.30	0.58	0.53	0.50	0.35	0.51
	G/G	0.08	0.10	0.32	0.35	0.18	0.00	0.30	0.11	0.11	0.06	0.31	0.19
rs4289236	G/G	0.75	0.73	0.45	0.59	0.53	0.83	0.70	0.65	0.68	0.78	0.60	0.63
	A/G	0.23	0.27	0.41	0.35	0.47	0.17	0.18	0.30	0.30	0.22	0.27	0.31
	A/A	0.03	0.00	0.14	0.06	0.00	0.00	0.12	0.05	0.02	0.00	0.13	0.06
rs4148187	G/G	0.38	0.50	0.27	0.29	0.35	0.33	0.39	0.32	0.37	0.43	0.35	0.31
	A/G	0.55	0.40	0.41	0.35	0.41	0.67	0.30	0.51	0.51	0.52	0.35	0.46
	A/A	0.08	0.10	0.32	0.35	0.24	0.00	0.30	0.16	0.12	0.06	0.31	0.22

		Likopenas											
		V				M				B			
VNP	GN	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4
rs3211908	C/C	0.62	0.96	0.77	0.90	0.81	0.84	0.93	0.79	0.71	0.89	0.85	0.85
	T/C	0.34	0.04	0.23	0.10	0.15	0.16	0.07	0.21	0.25	0.11	0.15	0.15
	T/T	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs3211830	C/C	0.62	0.96	0.69	0.90	0.81	0.81	0.93	0.79	0.71	0.87	0.82	0.85
	T/C	0.34	0.04	0.31	0.10	0.15	0.19	0.07	0.21	0.25	0.13	0.18	0.15
	T/T	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1534314	G/G	0.62	0.96	0.69	0.90	0.81	0.81	0.93	0.79	0.71	0.87	0.82	0.85
	A/G	0.34	0.04	0.31	0.10	0.15	0.19	0.07	0.21	0.25	0.13	0.18	0.15
	A/A	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
rs1334511	A/A	0.62	0.96	0.69	0.90	0.81	0.81	0.93	0.79	0.71	0.87	0.82	0.85
	G/A	0.34	0.04	0.31	0.10	0.15	0.19	0.07	0.21	0.25	0.13	0.18	0.15
	G/G	0.03	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
		$\alpha$ -karotenas											
		V				M				B			
VNP	GN	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4	Q1	Q1	Q3	Q4
rs6564863	C/C	0.47	0.43	0.38	0.56	0.43	0.38	0.52	0.65	0.46	0.41	0.45	0.62
	T/C	0.42	0.50	0.46	0.38	0.38	0.63	0.45	0.32	0.40	0.56	0.45	0.34
	T/T	0.11	0.07	0.15	0.06	0.19	0.00	0.03	0.03	0.14	0.04	0.09	0.04

VNP – vieno nukleotido polimorfizmo identifikacinis numeris, GT – genotipas, B – genotipų dažniai tirtoje bendroje Lietuvos lietuvių populiacijos grupėje, M – moterų grupė, V – vyrų grupė

## **APIE AUTORE**

Asta Mažeikienė gimė 1979 m. gruodžio 2 d. Klaipėdoje. 1998 metais baigė Klaipėdos 12-ąją vidurinę mokyklą. Tais pačiais metais pradėjo studijas Vilniaus universiteto Medicinos fakultete, kur 2002 m. įgijo visuomenės sveikatos bakalauro kvalifikacinį laipsnį (B Nr. 0112180) bei tęsė studijas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Medicinos biologijos magistratūroje. 2004 metais įgijo biologijos magistro kvalifikacijos laipsnį (MC Nr. 0143247). Nuo 2004 m. rugsėjo 1 d. dirba Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Fiziologijos, biochemijos ir laboratorinės medicinos katedroje jaunesniąja mokslo darbuotoja, nuo 2008 m. – asistente, nuo 2011 m. – lektore. Mokslinių interesų sritis – lipofiliniai antioksidantai. Nuo 2011 m. spalio 1 d. – Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto doktorantė. Nuo 2010 m. – VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros sekretorė; nuo 2012 m. Lietuvos laboratorinės medicinos draugijos narė; nuo 2015 m. Europos aterosklerozės draugijos narė. 2011 m. ir 2012 m. stažavosi Vokietijos Frydricho Šilerio universiteto Mitybos mokslų institute. Dėstomasis dalykas – Biochemija (lietuvių ir anglų kalbomis).

Kontaktinė informacija: Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra, M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius.

El. pašto adresas: [asta.mazeikiene@mf.vu.lt](mailto:asta.mazeikiene@mf.vu.lt)