

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
BIOMEDICINOS MOKSLŲ INSTITUTO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**JAUNŲ IR VIDUTINIO AMŽIAUS VYRŲ DIDELIO TANKIO LIPOPROTEINŲ
CHOLESTEROLIO IŠNEŠIMO GEBOS TYRIMAS**

Magistrantė KRISTINA RIKSAITĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas
Doc. dr. D. Karčiauskaitė _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
Doc. dr. D. Karčiauskaitė leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

2019 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS	6
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Lipidai	7
1.1.1. Riebalų rūgštys	8
1.1.2. Cholesterolis	9
1.1.3. Fosfolipidai	11
1.2. Lipoproteinai	11
1.2.1. Chilomikronai, jų apykaita	12
1.2.2. Labai mažo tankio lipoproteinai, jų apykaita	13
1.2.3. Tarpinio tankio lipoproteinai, jų apykaita	13
1.2.4. Mažo tankio lipoproteinai.....	13
1.2.5. Didelio tankio lipoproteinai, jų apykaita	15
1.2.5.1. Didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo geba	20
1.2.5.2. Cholesterolio išnešimo gebos tyrimų analizė, straipsnių apžvalga.....	22
1.3. Aterosklerozė	24
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	26
2.1. Tiriamoji grupė.....	26
2.2. Tyrimo metodai	26
2.2.1. Ląstelių kultivavimas ir DTL cholesterolio išnešimo geba.....	26
2.2.1.1. Reagentai ir priemonės	26
2.2.1.2. Ląstelių kultivavimas	27
2.2.1.3. DTL cholesterolio išnešimo geba	28
2.2.1.3.1. Ląstelių auginimas	28
2.2.1.3.2. Ląstelių žymėjimas cholesteroliu	29
2.2.1.3.3. Cholesterolio akceptorių paruošimas	29
2.2.1.3.4. Ląstelių inkubacija su cholesterolio akceptoriais.....	30
2.2.1.3.5. Ruošimas matavimui.....	30
2.3. Statistinė analizė.....	31
3. TYRIMO REZULTATAI.....	32
3.1. Tiriamosios grupės bazinė charakteristika	32
3.2. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų.....	38

3.3. Cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių sąsaja	39
3.3.1. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių sąsaja tarp jauno amžiaus vyrų.....	40
3.3.2. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių sąsaja tarp vidutinio amžiaus vyrų.....	41
3.4. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai.....	41
3.4.1. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai tarp jauno amžiaus vyrų.....	43
3.4.2. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai tarp vidutinio amžiaus vyrų.....	46
3.5. Cholesterolio išnešimo gebos ir aterosklerozės rizikos veiksnių sąsaja	49
3.6. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių pageidaujama ir per didelę/mažą lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją.....	49
3.7. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių daugiau nei 3 ir mažiau nei 4 rizikos veiksnius.....	51
4. REZULTATŲ APTARIMAS	52
4.1. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp skirtingo amžiaus vyrų	53
4.2. Cholesterolio išnešimo geba ir kiti lipidų apykaitos rodikliai	54
4.3. Cholesterolio išnešimo geba ir ŠKL rizikos veiksniai	55
4.4. Apibendrinimas	56
IŠVADOS	58
SANTRAUKA.....	59
SUMMARY	61
LITERATŪROS SĄRAŠAS	64

SANTRUMPOS

- ABCA1 – nuo ATP priklausomas pernešėjas A1
- ABCG5 – nuo ATP priklausomas pernešėjas G5
- ABCG8 – nuo ATP priklausomas pernešėjas G8
- ACAT – cholesterolio aciltransferazė (acilcholesterolaciltransferazė)
- ACC – Amerikos kardiologijos koledžas
- AHA – Amerikos širdies asociacija
- AKS – arterinis kraujo spaudimas
- Apo – apolipoproteinas
- B-Ch – bendrasis cholesterolis
- cAMP – ciklinis adenozino monofosfatas
- CE – cholesterolio esteris
- CEC – cholesterolio išnešimo geba (*cholesterol efflux capacity*)
- CETP – cholesterolio esterius pernešantis baltymas
- DAG – diacilglicerolis
- DTL – didelio tankio lipoproteinai
- DTL-Ch – didelio tankio lipoproteinų cholesterolis
- FBS – fetalinis jaučio serumas
- GPCR – receptorių, sujungtas su G baltymu
- KMI – kūno masės indeksas
- LAL – lizosominė rūgštinė lipazė
- LCAT – lecitincholesterolaciltransferazė
- LMTL – labai mažo tankio lipoproteinai
- Lp (a) – lipoproteinas (a)
- LPL – lipoproteinlipazė
- MTL – mažo tankio lipoproteinai
- MTL-R – MTL receptoriai

MTL-Ch – mažo tankio lipoproteinų cholesterolis

PBS – fosfatinio buferio tirpalas

PCSK9 – šaperono 9 tipo proproteino subtilizino/keksino konvertazė

PEG – polietilenglikolis

PSO – pasaulinė sveikatos organizacija

RA – reumatoidinis artritas

SCAP – SREBP skilimą aktyvuojantis baltymas

SRB1 – B1 tipo receptorių „rijikas“ (*scavenger*)

SREBP-2 – sterolio reguliacinį elementą (SRE) surišantis baltymas-2

ŠKL – širdies ir kraujagyslių ligos

TG – trigliceridai

TICE – transintestinalis cholesterolio išnešimas

TTL – tarpinio tankio lipoproteinai

ĮVADAS

Aterosklerozė – širdies, smegenų ir periferinių kraujagyslių ligų priežastis, kuri Vakarų pasaulyje sukelia didžiausią sergamumą ir mirtingumą (maždaug 50% visų mirčių) [1]. 2018 m. duomenimis Lietuvoje pagrindinės mirties priežastys buvo kraujotakos sistemos ligos, kurios sudarė 55,4% [2]. Todėl tyrimai, leidžiantys įvertinti širdies ir kraujagyslių ligų riziką, yra labai svarbūs.

Epidemiologiniai tyrimai atskleidė reikšmingą atvirkštinę priklausomybę tarp mažos didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos ir širdies bei kraujagyslių ligų grėsmės, todėl tai leido įsitvirtinti hipotezei, jog didesnis didelio tankio lipoproteinų cholesterolio kiekis yra apsaugantis nuo minėtų ligų. Tačiau naujesni tyrimai parodė, jog aktyviai didinama didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija nesumažina širdies ir kraujagyslių ligų grėsmės [3], o didesnis cholesterolio išnešimas iš makrofagų, esančių vidiniame arterijų sienelių sluoksnyje, gali suteikti apsaugą nuo aterosklerozės formavimosi, nepriklausomai nuo didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos plazmoje [4–6]. Cholesterolio išnešimo geba – tai matas, kuriuo įvertinamas didelio tankio lipoproteinų gebėjimas skatinti cholesterolio pašalinimą iš lipidais perpildytų makrofagų, tai yra šiuo rodikliu įvertinamas pirmas grįžtamojo cholesterolio transporto etapas [6]. Taigi cholesterolio išnešimas iš kraujagyslių sienelių gali jas apsaugoti nuo aterosklerozinės plokštelės susidarymo [7].

Įvertinus naujausius tyrimus, cholesterolio išnešimo geba – DTL funkcija, kuri gali būti patikimas žymuo širdies ir kraujagyslių ligų rizikai prognozuoti. Todėl svarbu ne tik standartizuoti metodiką, kuria nustatoma cholesterolio išnešimo geba, bet ir įvertinti veiksnių, siejamų su aterosklerozės rizika, poveikį šiam rodikliui.

Darbo tikslas:

Nustatyti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą jauniems ir vidutinio amžiaus vyrams bei įvertinti aterosklerozės rizikos veiksnių įtaką šiam rodikliui.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą ir ją palyginti tarp jauno (25–39 m.) ir vidutinio amžiaus (40–55 m.) vyrų.
2. Įvertinti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių sąsają.
3. Palyginti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą su kitais aterosklerozės rizikos rodikliais.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Lipidai

Lipidai – tai bendras terminas, apibūdinantis hidrofobinių molekulių klasę. Jie sintezuojami jungiantis tioesterių ar izoprenų vienetams, kurie yra tirpūs organiniuose tirpikliuose, tačiau beveik netirpsta vandenyje. Chemiškai lipiduose daugiausia yra vandenilio ir anglies, po hidrolizės susidaro riebalų rūgštys ar sudėtiniai alkoholiai, kurie dažniausiai esterinti riebalų rūgštimis. Tačiau yra ir kur kas sudėtingesnių lipidų, į kurių sudėtį įeina ir kitokios cheminės grupės, pavyzdžiui, sialo, fosfato grupės, suteikiančios tirpumą ne tik organiniuose tirpikliuose, bet ir vandenyje [8]. Lipidai gali būti suskirstyti į 5 grupes (1 lentelė). Paprasčiau lipodus, turinčius riebalų rūgščių, galime skirstyti į paprastus ir sudėtinius [9,10]. Paprastiesiems lipidams priskiriamas cholesterolis ir riebalų rūgštys, o sudėtiniais – trigliceridai ir fosfolipidai [9].

1 lentelė. Lipidų klasifikacija [8–10]

Kliniškai svarbių lipidų klasifikacija pagal jų cheminę struktūrą
Steroidų dariniai: cholesterolis ir cholesterolio esteriai, steroidiniai hormonai, tulžies rūgštys, vitaminas D
Riebalų rūgštys: turinčios trumpą (2–4 C), vidutinę (6–10 C) ar ilgą (12–26 C) anglies atomų grandinę, prostaglandinai
Glicerolio esteriai: trigliceridai, digliceridai, monogliceridai, fosfogliceridai
Sfingozino dariniai: sfingomielinas, glikosfingolipidai
Terpenai: vitaminai A, E ir K

Lipidų yra visur, o jų atliekamos funkcijos yra labai svarbios. Jie (fosfolipidai) sudaro dvisluoksnį, kuris formuoja ląstelių membranas, taip pat reikalingas specialioms organelėms, esančioms ląstelės viduje. Minėtas dvisluoksnis sukuria barjerą tarp ląstelės vidaus ir ekstraląstelinės aplinkos. Riebalų rūgštys, trigliceridai yra svarbus energijos šaltinis audiniams, tokiems kaip širdis ir skeleto raumenys. Kai kurie steroliai yra substratas antinksčių ir lytinių hormonų gamybai. Fosfolipidai sudaro plaučių surfaktantą, kuris iškloja alveolių vidinį paviršių ir neleidžia plaučiams subliūkšti. Fosfolipidų labai daug nervų sistemoje, kur jie įeina į mielinio apvalkalo, dengiančio neuronus, sudėtį, taip užtikrindami tikslų nervinio impulso perdavimą. Dar vieną specializuotą funkciją atlieka tulžis, palengvina įvairių metabolitų išskyrimą. Taip pat

lipidai gali būti kaip signalinės molekulės [9,11]. Trumpai tariant, pagrindinės lipidų funkcijos: biologinių membranų sudarymas, energijos atsargos, signalo perdavimas ar kitų molekulių, perduodančių signalą, modifikavimas. Tačiau kai kurie lipidai, ypač riebalų rūgštys, yra lengvai oksiduojami ir gali sukelti žalingą poveikį ląstelėms [12].

1.1.1. Riebalų rūgštys

Riebalų rūgštys – tai paprasčiausios lipidų tipų molekulės, kurios bendrai žymimos formulė RCOOH, kur R reiškia alkilo grupę. Riebalų rūgščių grandinės ilgis varijuoja ir todėl jos klasifikuojamos pagal anglies atomų skaičių. Trumpos grandinės, kurios turi 2–4 anglies atomus, vidutinės grandinės – 6–12 anglies atomų ir ilgos grandinės, turinčios 14–26 anglies atomus. Žmonių mitybai ir metabolizmui svarbiausios yra ilgos grandinės riebalų rūgštys [8].

Epidemiologiniai ir eksperimentiniai tyrimai parodė, kad trans-riebalų rūgštys gali skatinti išeminės širdies ligos išsivystymą, todėl svarbu sumažinti katalizinio hidrinimo naudojimą maisto perdirbimo metu ir bendrą trans-riebalų rūgščių vartojimą [13]. Atlikti tyrimai atskleidė, jog trans-riebalų rūgštys padidina mažo tankio lipoproteinų cholesterolio (MTL-Ch) bei mažina didelio tankio lipoproteinų cholesterolio (DTL-Ch) koncentracijas, gali sukelti sisteminį uždegimą ir endotelio disfunkciją [14,15].

Daugumą riebalų rūgščių mūsų organizmas gali sintetinti, tačiau linolo ir α -linoleno rūgščių būtina gauti su maistu. Linolo rūgštis verčiama į arachidono rūgštį, kuri svarbi prostaglandinų sintezei bei mielinizacijos procesui centrinėje nervų sistemoje [8].

Plazmoje ir intraląsteliniame skystyje laisvos riebalų rūgštys egzistuoja jonizuotoje formoje. Tačiau dauguma riebalų rūgščių plazmoje yra esterifikuotos. Taip pat santykinai nedideli kiekiai laisvų riebalų rūgščių gabenami sujungti su albuminu. Normali laisvų riebalų rūgščių koncentracija žmogaus kraujyje yra santykinai maža – nuo 0,30 iki 1,10 mmol/L [8].

Riebalų rūgščių katabolizmas vyksta mitochondrijose. Jų oksidacija – yra sudėtingas procesas, kurį sudaro daug pasikartojančių reakcijų. Tam, jog riebalų rūgštys patektų į mitochondrijas, jos turi būti paverčiamos į acil-KoA. Toliau šis junginys oksiduojamas β -oksidacijos būdu atskeliant po du anglies atomus vienu metu. Tada susidaręs acetil-KoA oksiduojamas Krebso cikle. Vykstant riebalų rūgščių metabolizmui išsiskiria daug daugiau energijos nei angliavandenių ar baltymų metabolizmo metu [8,9]. Taip pat riebalai gali būti ne tik katabolizuojami, bet ir sintezuojami *de novo*. Dažniausiai tai nėra labai svarbu, kadangi su maistu gauname pakankamai riebalų, dėl ko sintezė stabdoma, tačiau vartojant daug angliavandenių, o ypač fruktozės, lipogenezė pradedama skatinti tiek kepenyse, tiek riebaliniame audinyje [9].

Riebalų rūgštys yra labai svarbios, jos įeina į kitų lipidų sudėtį, pavyzdžiui, sudaro trigliceridus, kurie yra lipoproteinų sudedamoji dalis, todėl siekiant suvokti lipoproteinų apykaitą ir funkcijas, pirmiausia svarbu suprasti kas juos sudaro.

1.1.2. Cholesterolis

Cholesterolio randama kiekviename gyvame organizme, o augaluose – fitocholesterolio. Cholesterolis – tai sterolis, kuris turi tetraciklinį perhidrociklopentanofenantreno žiedą, vieną nesotųjį dvigubąjį ryšį ir vieną pirminį alkoholį, kas nulemia ne tik hidrofobines, bet ir hidrofilines šio lipido savybes. Iš viso šį lipidą sudaro net 27 anglies atomai (C₂₇ H₄₆ O). Cholesterolis yra labai svarbių medžiagų: vitamino D, steroidinių hormonų, tulžies rūgščių, pirmtakas. Didžioji dalis pro žarnyną patenkančio cholesterolio yra endogeninės kilmės, o ne iš egzogeninių šaltinių, todėl tarp su mityba gaunamo cholesterolio ir koronarinės aterosklerozės yra tik silpnas ryšys [8]. Atsižvelgiant į tai, Amerikos kardiologijos koledžo (ACC) bei Amerikos širdies asociacijos (AHA) gairėse nurodyta, jog nebuvo nustatyta, kad cholesterolio kiekio mažinimas maiste gali labai paveikti cholesterolio kiekį plazmoje [16].

Cholesterolio absorbcijoje dalyvauja NPC1L1 baltymas, kuris randamas virškinamojo trakto epitelio ląstelėse, todėl NPC1L1 geno funkcijos praradimas siejamas su sumažėjusia cholesterolio koncentracija plazmoje ir sumažėjusia išeminės širdies ligos rizika. Po absorbcijos į enterocitus, cholesterolis ir fitosterolis gali būti esterifikuojami acil-KoA: cholesterolio aciltransferazės (ACAT). Taip pat iš enterocitų gali būti išnešami ir laisvi steroliai, tai atlieka nuo ATP priklausomi pernešėjai A1 (ABCA1), jie sterolius perneša ant mažų DTL dalelių. Net apie trečdalis didelio tankio lipoproteinų cholesterolio (DTL-Ch) susiformuoja šio proceso metu. Taip pat žarnynas gali elgtis kaip sekrecinis organas ir per ABCG5/G8 pernešėjus cholesterolį bei kitus sterolius grąžinti į virškinamąjį traktą. Visgi tikriausiai svarbiausias kelias, net tik cholesterolio, bet ir kitų lipidų: trigliceridų, fosfolipidų, specifinių apolipoproteinų (apo), laisvų sterolių, surinkimas į didžiulius lipoproteinus, kurie vadinami chilomikronais. Šie patenka į limfą, o po to ir į kraują [8,9].

Cholesterolis gali būti gaminamas kiekviename mūsų audinyje. Sintezės eigos išaiškinimas buvo didelis laimėjimas. Pirmiausia, acetatas ir/ar acetil-KoA verčiamas į HMG-KoA, o šis junginys yra substratas HMG-KoA reduktazei, kuri jį verčia į mevalonatą. Tai išsiaiškinus buvo pradėti naudoti statinai, kurie yra HMG-KoA reduktazės inhibitoriai ir stabdo HMG-KoA vartimą mevalonatu, tai yra taip sumažinama cholesterolio sintezė, nebevyksta tolesnės reakcijos [8,9].

Didžioji dalis organizme esančio cholesterolio kaupiama ląstelėse ar transportuojama lipoproteinų šerdyje, hidrofobinių, cholesterolio esterio, molekulių pavidalu. Riebalų rūgštys esterinamos prie hidroksilo grupės, taip dažniausiai sukuriama cholesterolio oleatą arba palmitatą. Taip pat yra keletas intraląstelinių fermentų, kurie cholesterolio esterius gali atgal paversti į laisvą cholesterolį [8].

Beveik visas plazmos cholesterolis yra surištas su lipoproteinais: labai mažo tankio (LMTL), tarpinio tankio (TTL) ir mažo tankio (MTL) arba išnešamas į didelio tankio lipoproteinus (DTL). Todėl cholesterolio esterifikacija ypač svarbi, ji padeda padidinti lipoproteinų lipidų pernešimo gebą ir apsaugo ląsteles nuo toksiškumo, kurį gali sukelti laisvas cholesterolis. Esterifikacijos reakciją katalizuoja du fermentai: plazmoje – lecitincholesterolaciltransferazė (LCAT), ląstelėje – acilcholesterolaciltransferazė (ACAT). Cholesterolio esteriai sudaro apie 70% viso plazmos cholesterolio ir būtent už didžiosios dalies susidarymą yra atsakinga LCAT. Šiam fermentui būdingi du aktyvumai: α -LCAT atlieka DTL laisvo cholesterolio esterifikaciją, o β -LCAT veikia lipoproteinus, turinčius apolipoproteinų B (apo B). Cholesterolio esteris (CE) yra hidrofobiškesnis nei cholesterolis, todėl tai lemia jo perėjimą iš lipoproteinų paviršiaus į hidrofobiškesnę šerdį, kur taip pat lokalizuoti ir trigliceridai. Tai ypač svarbu DTL dalelių brendimui ir didėjimui, CE patekus į šerdį prisijungiamas daugiau laisvo cholesterolio, kuris išnešamas iš ląstelių [8].

Lipoproteinams patekus į ląsteles, cholesterolio ir glicerolio esteriai lizosomose hidrolizuojami lizosominių rūgštinių lipazių (LAL). Visiškas arba dalinis šio fermento nebuvimas sukelia lizosomų kaupimo ligas, dėl kurių ypač kepenyse kaupiasi cholesterolio esteriai (CE) ir trigliceridai [8].

Cholesterolis negali būti katabolizuojamas į anglies dioksidą ir vandenį, todėl jis pašalinamas kitais būdais [9]. Cholesterolis kepenyse metabolizuojamas į tulžies rūgštis arba kaip laisvas išskiriamas į tulžį. Taip pat gali būti įtraukiamas į lipoproteinų sudėtį ir atgal išskiriamas į kraujotaką. Cholesterolis verčiamas į cholinę ir chenodeoksicholinę rūgštis, tai apima cholesterolio šoninės grandinės sutrumpinimą bei sterolio branduolio hidroksilinimą. Kai kurios tulžies rūgštys, veikiamos bakterijų toliau verčiamos: cholinė rūgštis į deoksicholinę, o chenodeoksicholinė metabolizuojama į litocholinę rūgštį. Didžioji dalis tulžies rūgščių dalyvauja enterohepatinėje cirkuliacijoje, tai yra iš žarnyno reabsorbuojamos ir grįžta į kepenis. Nemažas cholesterolio ir fitosterolių kiekis yra išskiriamas iš enterocitų bei hepatocitų per ABCG5/G8 pernešėją atgal į žarnų spindį ar tulžį. Galiausiai tulžies rūgštys išskiriamos su išmatomis [8].

Svarbu pažymėti tai, kad, išskyrus kepenis ir kai kuriuos endokrininius audinius, dauguma ląstelių negali modifikuoti cholesterolio. Dėl to ir dėl jo riboto tirpumo vandenyje, jis linkęs kauptis ląstelėse, o tai gali turėti įtakos aterosklerozės vystymuisi. Tačiau nebūtinai, nes ląstelės

turi galimybę cholesterolio perteklių perduoti DTL dalelėms, todėl čia labai svarbu jų cholesterolio išnešimo geba [8].

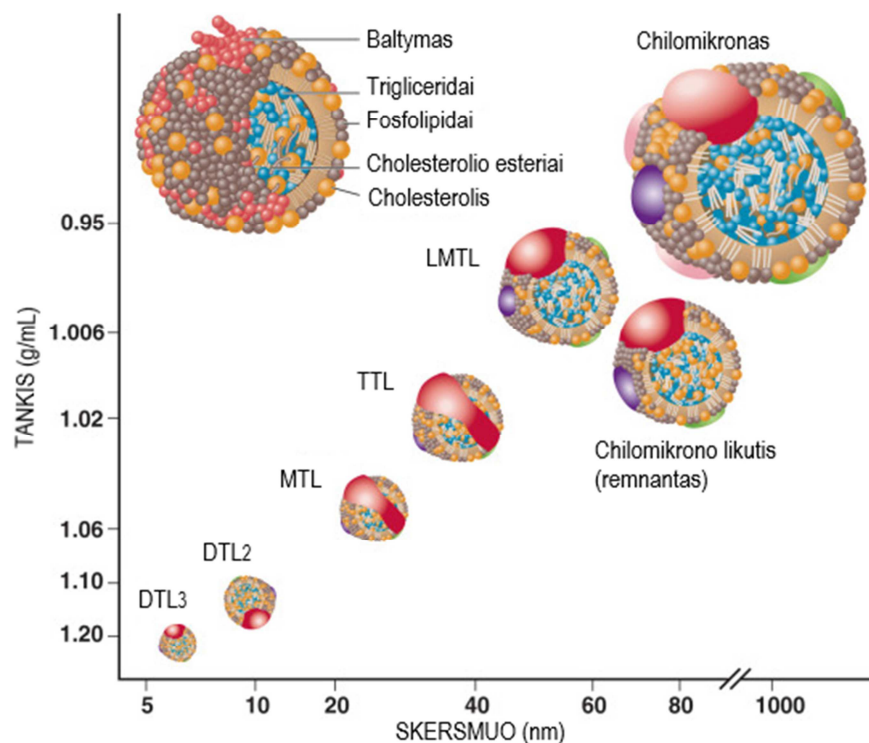
1.1.3. Fosfolipidai

Didžiąją dalį žmogaus plazmos fosfolipidų sudaro fosfatidilcholinai (70–75%) ir sfingomielinai (18–20%) [17]. Kaip ir trigliceridų atveju, fosfatidilcholinai turi glicerolio pagrindą, prie kurio prijungtos dvi riebalų rūgštys, fosfato grupė. O prie fosfato dar prijungtas cholinas. Fosfolipidų struktūra daro juos tinkamu lipoproteinų paviršiaus bei ląstelių membranų pagrindu: dvigubas jų sluoksnis yra orientuotas taip, kad hidrofobiniai regionai nukreipti vienas į kitą, o hidrofiliniai sąveikauja su vandenine aplinka [9]. Tačiau čia minimas dvisluoksnis nėra būdingas lipoproteinams, jų šerdyje nėra vandeninės terpės kaip ląstelėse, bet ten gausu hidrofobinių medžiagų, pavyzdžiui, cholesterolio esterių.

Jau minėti lipoproteinų fosfolipidai gali daryti reikšmingą įtaką svarbioms organizmo funkcijoms, ypač širdies ir kraujagyslių veiklai. Grįžtamajame cholesterolio transporte DTL fosfolipidai yra svarbesni nei cholesterolis ar net apolipoproteinas AI (apo A-I); pastebėta, kad DTL fosfolipidų sudėties nukrypimai turi didesnę poveikį DTL funkcijai nei cholesterolio koncentracija. Taip pat fosfolipidai yra svarbūs substratai lipoproteinus metabolizuojantiems fermentams (pavyzdžiui, LCAT), todėl fosfolipidų pokyčiai gali neigiamai paveikti šių fermentų funkciją. Svarbiausia, kad esminių riebalų rūgščių mitybos statusas yra tiksliau įvertinamas pagal tai, kokios riebalų rūgštys įeina į fosfolipidų sudėtį, o ne pagal bendrą lipidų kiekį. Buvo pastebėta, kad sočiųjų riebalų rūgščių kiekis fosfolipiduose yra nepriklausomas aterosklerozės rizikos veiksnys [17].

1.2. Lipoproteinai

Lipoproteinai yra sudėtinės makromolekulinės struktūros, padengtos fosfolipidų, laisvo cholesterolio, apolipoproteinų apvalkalu, kuris apgaubia hidrofobinę cholesterolio esterių bei trigliceridų šerdį. Lipoproteinai skiriasi dydžiu, tankiu vandeninėje plazmos terpėje, lipidų ir apolipoproteinų kiekiu (1 pav.). Būtent klasifikacija atspindi jų tankį plazmoje (plazmos tankis 1,006 g/mL). Chilomikronai, chilomikronų likučiai, labai mažo tankio lipoproteinai (LMTL) – tai daug trigliceridų turintys lipoproteinai (jų tankis mažesnis nei 1,006 g/mL). Likusią plazmos frakciją sudaro mažo tankio lipoproteinai (MTL), didelio tankio lipoproteinai (DTL), lipoproteinas (a) (Lp (a)) [17].



1 pav. Santykinis plazmos lipoproteinų dydis pagal jų hidratuotą tankį [17]

1.2.1. Chilomikronai, jų apykaita

Lipoproteinų metabolizmą galima suskirstyti į egzogeninę ir endogeninę fazes. Egzogeninės fazės metu tiek su maistu gauti, tiek iš tulžies enterohepatinės cirkuliacijos patekę lipidai yra absorbuojami į enterocitus. Tokie lipidai suformuoja labai didelius lipoproteinus, kurie vadinami chilomikronais. Trigliceridai sudaro apie 90% chilomikrono lipidų kiekio [18]. Susiformavę chilomikronai pirma išsiskiria į limfinę sistemą ir tik po to į kraujotaką [17]. Kiekviena chilomikronų dalelė turi apo B-48 [18]. Tačiau teigiama, kad į šių lipoproteinų sudėtį įeina ir daug kitų apolipoproteinų: apo AI, apo AIV, apo CI, apo CII, apo CIII, ir apo E [17]. Į kraujotaką patekę chilomikronų trigliceridai hidrolizuojami į laisvasias riebalų rūgštis, o tai atlieka fermentas LPL. Laisvosios riebalų rūgštys yra įsisavinamos periferinių audinių, ten jos panaudojamos energijos gamybai. Riebaliniame ir raumeniniame audiniuose laisvosios riebalų rūgštys gali būti resintetinės į trigliceridus ir kaupiamos būsimai energijos gamybai. Chilomikronų remnantai, turintys likutinį trigliceridų ir nedidelį su maistu gautą cholesterolio kiekį, patenka į kepenis [18]. Taip chilomikronų likučiai pašalinami iš cirkuliacijos [17]. Nepaisant to, yra įrodymų, jog aterosklerozinėse plokštelėse yra apo B-48, todėl šie remnantai laikomi aterogeninėmis dalelėmis [18].

1.2.2. Labai mažo tankio lipoproteinai, jų apykaita

Endogeninė lipoproteinų apykaitos fazė apima LMTL formavimąsi kepenyse. LMTL organizmo audiniams tiekia cholesterolį ir trigliceridus, gautus iš kepenų bei adipocitų kaupimo vietų [18]. Lyginant su chilomikronais, LMTL dalelės yra mažesnės. Pagal masę LMTL sudaryti iš 50% trigliceridų, 40% cholesterolio, fosfolipidų ir 10% baltymų: daugiausia apo B-100, apo E ir apo C [17], kitur nurodoma, jog trigliceridai sudaro net 70% LMTL lipidų kiekio [18]. Tačiau, kaip teigia [17], LMTL dalelės gali varijuoti tiek dydžiu, tiek chemine sudėtimi. LMTL iš kepenų išsiskiria į kraujotaką, kur LPL vėl palengvina trigliceridų pašalinimą: susidariusios riebalų rūgštys pristatomos į raumenines ląsteles energijos gamybai. Šio endogeninio mechanizmo pagalba adipocituose, hepatocituose ir raumeninėse ląstelėse sukaupti trigliceridai gali būti naudojami badaujant, kaip daugiau energijos turinti alternatyva gliukozei. Kai dalis trigliceridų pašalinama, formuojasi aterogeninės lipoproteinų dalelės: LMTL remnantai ir TTL [18]. Tam tikri hepatocitų receptoriai atpažįsta apo E, apo B-100, todėl iš kraujotakos į kepenis gali patekti ne tik chilomikronų remnantai, bet ir LMTL, TTL [17].

1.2.3. Tarpinio tankio lipoproteinai, jų apykaita

Dėl LPL poveikio ir sumažėjusio trigliceridų kiekio LMTL dalelės tampa mažesnėmis, todėl netenka laisvo cholesterolio, fosfolipidų, apolipoproteinų, kuriuos perima DTL. Tokie LMTL pokyčiai paverčia šias daleles tankesniais TTL. Cholesterolis, kuris buvo perkeltas į DTL yra sintetinamas į cholesterolio esterius ir atgal grąžinamas į TTL, mainais į trigliceridus. Dar daugiau trigliceridų pašalinama dėl kepenų lipazės, kuri yra ant kepenų endotelio ląstelių. Vykstant tokiems pokyčiams ir mainams TTL paverčiami į MTL, kurie daugiausia sudaryti iš cholesterolio esterių, fosfolipidų ir apo B-100 [9,18].

1.2.4. Mažo tankio lipoproteinai

MTL – pagrindinis cholesterolio pernešėjas [12,19]. Daugiausia pernešama cholesterolio esterių forma. MTL formuojasi iš LMTL per TTL [19]. MTL sudaro apie 50% visos lipoproteinų masės plazmoje. Šios dalelės yra daug mažesnės nei chilomikronai ar LMTL (1 pav.), todėl neišsklaido šviesos ir nesuteikia plazmai drumstumo. MTL sudaryti iš 50% cholesterolio (daugiausia cholesterolio esterių), 25% baltymų (daugiausia apo B-100 ir nedaug apo C), 20% fosfolipidų ir visai nedaug trigliceridų [17]. Normaliai, trigliceridai sudaro tik 4–8% MTL masės [12].

Didžioji MTL dalis iš cirkuliacijos patenka į kepenis (maždaug 75%), kepenų receptoriai (MTL-R) juos atpažįsta per apo B-100 molekules, kurios pateikiamos kaip ligandai. Likęs MTL patenka į kitus audinius. Dalis MTL modifikuojami ir iš cirkuliacijos pašalinami su fagocitais, kurie randami aterosklerozinėse plokštelėse [17]. MTL patekimas į makrofagus vyksta per šių ląstelių receptorius. Tai yra įprastas procesas, esant normaliai MTL koncentracijai, tačiau suintensyvėja koncentracijai padidėjus ir vykstant MTL modifikacijai (pavyzdžiui, oksidacijai). Ši makrofagų funkcija, tai yra MTL įsisavinimas arterijų sienelėje, yra svarbus procesas aterosklerozės patogenezėje. Taigi, tam suintensyvėjus ir makrofagui prisipildžius cholesterolio esterių, jis tampa putotąja ląstele – tai yra klasikine aterosklerozinių plokštelių sudedamąja dalimi [19].

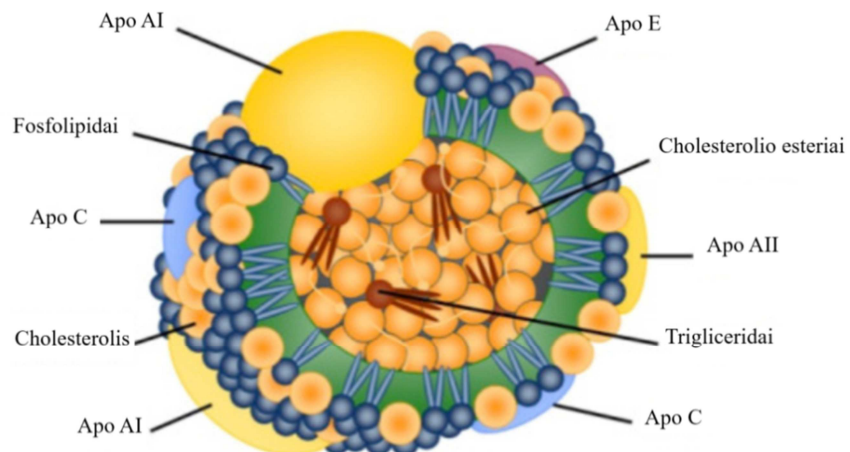
MTL receptoriai (MTL-R) lokalizuojasi tuose plazminės membranos regionuose, kuriuose yra daug baltymo klatrino. Prisijungus prie receptoriaus, klatrinas polimerizuojasi ir sudaro endosomą, kurioje yra MTL, prisijungęs prie MTL-R, plazminės membranos dalis ir klatrinas. Ši dalelė susilieja su ląstelėje esančiomis lizosomomis, kurių hidroliziniai fermentai (cholesterolio esterių hidrolazė, katepsinai) išskiria laisvąjį cholesterolį ir skaido apo B. MTL-R išlaisvina ligandą ir gali pakartotinai patekti į plazminę membraną, tai yra receptorius pakartotinai panaudojamas [12]. Tačiau dalyvaujant šaperono 9 tipo proproteino subtilizino/keksino konvertazei (PCSK9), kurią išskiria hepatocitai, tai yra įvykus jos autokatalitiniam skilimui ir prisijungimui prie MTL-R, vyksta PCSK9 ir MTL-R komplekso nukreipimas į „lizosominį degradacinį kelią“. Taip neįvyksta normalus MTL-Ch perdirbimas [20]. PCSK9 geno funkcijos pokyčių mutacijos sukelia autosominę dominantinę hipercholesterolemiją, o mutacijos, kurios lemia funkcijos praradimą, padidina MTL-R ir žymiai sumažina MTL-Ch. Taigi, nedalyvaujant minėtai konvertazei, MTL-R greitai perdirbamas, grįžta į ląstelės paviršių. MTL dalelės greitai pašalinamos, tarpininkaujant MTL-R, susidarant endocitozėms – taip sumažinama MTL-Ch koncentracija kraujyje. Tačiau PCSK9 sudarius kompleksą su MTL-R/MTL, MTL-R negali būti perdirbamas, todėl jų mažėja, kas lemia MTL klirensą sutrikdymą ir MTL kaupimąsi kraujyje [12].

Ląstelės reguliuoja savo cholesterolio kiekį keliais būdais: cholesterolio sintezė reguliuojama lygiajame endoplazminiame tinkle per hidroksimetilglutaril-KoA redutazę; sukeliama MTL endocitozė, dalyvaujant receptoriams (šie du mechanizmai yra kontroliuojami sterolio reguliacinį elementą (SRE) surišančio baltymo-2 (SREBP-2)); cholesterolis išnešamas per plazminę membraną, cholesterolį priimančioms dalėlėms (akceptoriams) (daugiausia apo AI, DTL), dalyvaujant nuo ATP priklausomiems pernešėjams A1 ir G1 (ABCA1 ir ABCG1); vykdoma cholesterolio esterių sintezė veikiant fermentui acil-KoA-cholesterolaciltransferazei (ACAT) [12,21]. Kaip buvo minėta, SREBP-2 koordinuoja du pirmuosius kelius, o tai atliekama per genų

transkripciją. Ląstelėse esantis cholesterolis prisijungia prie SREBP skilimą aktyvuojančio baltymo (SCAP), kuris yra ant endoplazminio tinklo. Cholesterolis slopina SCAP sąveiką su SREBP. Nesant cholesterolio, SCAP dalyvauja SREBP skilime, kuris vyksta dvejose vietose. Skilimą katalizuoja specifinės proteazės, dėl kurių atskyta fragmentas, keliaujantis į branduolį ir ten didinantis genų, dalyvaujančių cholesterolio ir riebalų rūgščių homeostazės palaikyme, transkripcijos aktyvumą [22]. Pavyzdžiui, taip gali būti suaktyvinta cholesterolio sintezė ląstelėje. Kitas minėtas cholesterolio kiekio reguliavimas – tai ACAT kelias. Žmonės turi dvi skirtingas ACAT formas: ACAT1 ir ACAT2. ACAT aktyvinama MTL patekus į ląstelę, ji tarpininkauja cholesterolio esterių sintezėje, kuri vyksta citoplazmoje bei endoplazminiame tinkle. Cholesterolio esteriai panaudojami LMTL surinkimui bei sekrecijai [12]. Taigi cholesterolio kiekio reguliavimas organizme gali būti atliekamas keliais skirtingais būdais.

1.2.5. Didelio tankio lipoproteinai, jų apykaita

Didelio tankio lipoproteinai (DTL) yra mažos dalelės, kurias sudaro baltymai, cholesterolis, fosfolipidai ir nedidelis trigliceridų kiekis (2 pav.). Apo AI yra pagrindinis DTL apolipoproteinas, kuris sintezuojamas kepenyse ir plonajame žarnyne. Skirtingai nuo apo B turinčių lipoproteinų, dauguma DTL dalelių turi daugiau nei vieną apo AI molekulę. DTL, gaminami kepenyse ir žarnyne, dalyvauja grįžtamajame cholesterolio transporte [12].



2 pav. Didelio tankio lipoproteinų sandara [23]

Apibūdinant tiksliau, DTL yra tankiausi ir mažiausi serumo lipoproteinai. Ultracentrifuguojant jų tankio intervalas yra nuo 1,063 iki 1,210 g/mL. Jų dydis taip pat gali skirtis: nuo 7 iki 20 nm. DTL – sferinė dalelė, kuri turi 2–4 apo AI molekules, fosfolipidų monosluoksnį ir šerdį, sudarytą iš cholesterolio esterių bei mažo kiekio trigliceridų. Vertinant procentiškai, didžiausią DTL lipidų dalį sudaro fosfolipidai – 35–50%, daugiausia

fosfatidilcholinai. Taip pat yra sfingolipidų – 5–10% [24]. Laisvas cholesterolis ir kiti steroliai sudaro santykinai nedidelę dalį (5–10%), bet cholesterolio esteriai sudaro net 30–40% lipidų masės [25]. Struktūriškai svarbūs baltymai, tokie kaip apo AI ir apo AII (atitinkantys maždaug 70% ir 20% DTL baltymų masės), sudaro pagrindinę DTL baltymų dalį, tačiau tai ne vieninteliai DTL apolipoproteinai (2 lentelė). Taigi minėti DTL tarpusavio skirtumai, leidžia suvokti, jog tai labai dinamiškos, nuolat besikeičiančios ir perdirbamos dalelės [24].

DTL dalelių heterogeniškumas leidžia jas suskirstyti į grupes, atsižvelgiant į dalelių tankį, dydį, formą, paviršinį krūvį ir sudėtį. Kai žmogaus DTL išskiriami pagal tankį, juos galima suskirstyti į dvi pagrindines subfrakcijas: DTL₂, apimančią dideles, mažiau tankias daleles, DTL₃, susidedančią iš mažesnių, tankesnių dalelių. Atliekant poliakrilamido gelio elektroforezę, nustatomi mažiausiai penki skirtingo dydžio DTL pogrupiai. O agarozės gelio elektroforezės metodu DTL dalelės suskirstomos į keletą pogrupių, bet ne pagal dydį, o pagal paviršiaus krūvį. Pagal šį metodą, α -migruojančios dalelės prilygsta sferinėms DTL dalelėms, kurios vyrauja žmogaus kraujo plazmoje, o tuo tarpu pre- β -migruojančios dalelės apima vienas apo AI molekules, apo AI molekules su nedideliu kiekiu fosfolipidų ir disko formos daleles, kurios turi dvi ar tris apo AI molekules, fosfolipidų bei nedidelį kiekį laisvo cholesterolio. Taip pat galimos ir kitokios DTL klasifikacijos, pavyzdžiui, pagal turimas apo A molekules. Taigi DTL nomenklatūra yra sudėtinga ir paini [26].

Ne mažiau sudėtingas yra ir DTL vaidmuo žmogaus organizme. Viena iš labiausiai ištirtų funkcijų yra DTL dalyvavimas cholesterolio išnešime iš makrofagų, esančių arterijų sienelėse. DTL taip pat slopina kraujagyslių uždegimą ir turi antioksidacinių bei antitrombozinių savybių. Pavyzdžiui, DTL slopina trombocitų ir fibrinogeno sąveiką. Stiprina endotelio funkciją, skatina jo atsistatymą, padidina angiogenezę, slopina kaulų čiulpuose gaminamų monocitų bei neutrofilų sintezę bei brendimą. Visai neseniai buvo atrastos ir DTL antidiabetinės savybės. Dauguma funkcijų nėra pakankamai ištirtos, nėra žinoma jų klinikinė svarba, kurie DTL komponentai už tai atsakingi ar net kurios DTL grupės tai atlieka. Dalelių ištyrimą apsunkina jų pačių dinamiškumas taip pat tai, kad šiuo metu neįmanoma atskirti konkrečių DTL pogrupių tokiais kiekiais, kurie yra pakankami sistemingam funkcionalumo tyrimui. Taigi prie DTL antiaterogeninės savybės galima priskirti ne vien grįžtamąjį cholesterolio transportą [26].

2 lentelė. Didelio tankio lipoproteinų (DTL) apolipoproteinai ir jų reikšmė

Apolipoproteinas	Funkcijos, reikšmė
Apo AI	<ul style="list-style-type: none"> • Struktūrinis DTL baltymas [9], • LCAT kofaktorius [9], • Labai svarbus grįžtamajame cholesterolio transporte [9], • Nuo ATP priklausomo pernešėjo A1 ir B1 tipo receptoriaus „rijiko“ (SRB1) ligandas [9], • Padidėjęs kiekis susijęs su sumažėjusia ŠKL rizika [27],
Apo AII	<ul style="list-style-type: none"> • Slopina LCAT veikimą [9], • Slopina apo E prisijungimą prie receptorių [9], • Aktyvuoja kepenų lipazę [9], • Kai kuriuose šaltiniuose teigiama, jog apo AII funkcija nėra tiksliai žinoma, nors ir yra įrodymų prieš tai minėtam veikimui [8]. • Genetiškai ir biochemiškai susiję su šeimine kombinuota hiperlipidemija [27].
Apo AIV	<ul style="list-style-type: none"> • LCAT aktyvatorius [8,9], • Potencialus sotumo faktorius [8,9], • Galimai skatina lipidų absorbciją žarnyne [8,9], • Apo AIV gali prisidėti prie lipoproteinų lipolizės, palengvinant apo CII išsiskyrimą iš DTL arba LMTL [28].
Apo CI	<ul style="list-style-type: none"> • LCAT aktyvatorius [8,9], • Slopina chilomikronų klirensą [8], • Slopina lipoproteinlipazę (LPL), kepenų lipazę, fosfolipazę A2 ir cholesterolio esterius pernešantį baltymą (CETP). Tai sudaro didžiąją dalį CETP slopinančio aktyvumo, randamo žmogaus plazmos DTL [8], • Reguliuoja remnantų prisijungimą prie receptorių [9].
Apo CII	<ul style="list-style-type: none"> • Svarbus normaliam lipidų klirensui palaikyti, tai yra dalyvauja LMTL ir chilomikronų apykaitoje, nes yra LPL kofaktorius (aktyvatorius) [8,9,27].

Apolipoproteinas	Funkcijos, reikšmė
Apo CIII	<ul style="list-style-type: none"> • Stimuliuoja LMTL surinkimą ir sekreciją [8], • Slopina chilomikronų klirensą, bet lipolizę sumažina ne per tiesioginį LPL slopinimą, kaip buvo manoma anksčiau [8]. Kai kuriuose šaltiniuose šis apo dar pateikiamas kaip LPL inhibitorius [9,27], • Reguliuoja remnantų prisijungimą prie receptorių [9], • Apo CIII geno mutacijos lemiančios mažesnę jo kiekį yra susijusios su mažesne aterosklerozės rizika [9] arba bendrai mažesne širdies išeminės ligos rizika [8].
Apo E	<ul style="list-style-type: none"> • Sąveikauja su MTL ir chilomikronų remnantų receptoriais, todėl atsakingas už chilomikronų klirensą po valgio, už LMTL ir TTL dalelių klirensą prieš joms virstant MTL [8,9], • Turi 3 izoformas (W, T): E2, E3, E4 (atitinkamais skaičiais ženklinami ir aleliai) [8], • Nustatyta linijinė priklausomybė tarp genotipo bei MTL cholesterolio kiekio ir rizikos sirgti išemine širdies liga: $\epsilon 2/\epsilon 2 < \epsilon 2/\epsilon 3 < \epsilon 2/\epsilon 4 < \epsilon 3/\epsilon 3 < \epsilon 3/\epsilon 4 < \epsilon 4/\epsilon 4$ ($\epsilon 2$ alelis sumažina riziką, o $\epsilon 4$ padidina) [8], • Apo E4 alelis turi stiprų ryšį su Alzheimerio ir kitomis neurologinėmis ligomis [8]. • Dalyvauja cholesterolio grįžtamajame transporte [9].

DTL apykaita yra sudėtinga ir dar nevisiškai suprantama [24]. Tradicinė grįžtamojo cholesterolio transporto kelio koncepcija (cholesterolio transportas, kuriame tarpininkauja DTL) buvo iš esmės permąstyta [8]. Istoriskai buvo manoma, kad grįžtamasis cholesterolio transportas padeda organizmui išlaikyti cholesterolio homeostazę, pašalindamas periferinių ląstelių cholesterolio perteklių ir jį pernešdamas į kepenis išskyrimui. Buvo manoma, kad šiame procese daugiausia tarpininkauja DTL [29]. Naujausi tyrimai atskleidė, kad tai daug sudėtingesnis ir dinamiškesnis kelias, įtraukiantis visus kitus lipoproteinus, įskaitant MTL, žarnyną ir kitus organus bei cholesterolio telkinius. Taigi grįžtamasis cholesterolio transportas yra tiesioginių ir netiesioginių kelių suma, kurios dėka nereikalingi steroliai galiausiai yra transportuojami kitur arba pašalinami iš organizmo [30].

DTL apykaita prasideda nuo apo AI sintezės kepenyse ir žarnyne. Išskirtas Apo AI greitai paima fosfolipidus, cholesterolį ir kitus lipidus iš ląstelių per nuo ATP priklausomą pernešėją A1 (ABCA1) [8]. Taip vyksta pirminio DTL formavimasis. Toks DTL savo lipidų sudėtimi atitinka plazminės membranos sritį, iš kurios lipidai ir buvo paimti [25]. Šiame etape pagamintų DTL forma panaši į diską, o dėl elektroforezinio judrumo jie vadinami Preβ-DTL. Preβ-DTL formuoja plokščią fosfolipidinį sluoksnį, kuris panašus į dvisluoksnę struktūrą. Dvi apo AI molekulės stabilizuoja DTL, apsuptamos fosfolipidų sluoksnio šonus. Kadangi didžioji dalis DTL-Ch yra paimta iš kepenų, dalelės turi atlikti daugiau nei grįžtamąjį cholesterolio transportą atgal į kepenis, todėl neseniai susiformavo supratimas, jog DTL cholesterolį neša ne viena kryptimi ir taip padeda organizmui subalansuoti cholesterolio pasiskirstymą tarp įvairių audinių [8].

Laisvas cholesterolis, paimtas iš ląstelių, LCAT fermento yra verčiamas į cholesterolio esterius, kurie patenka į DTL šerdį [27]. Dėl tokių pokyčių DTL dalelė tampa sferinė, o tai yra subrendusios dalelės forma. Didesnės sferinės DTL formos gali prisijungti papildomą cholesterolio kiekį per kitus ląstelinius membranų pernešėjus, pavyzdžiui, ABCG1, SRB1 [8]. K. A. Rye ir P. J. Barter (2014) teigia, jog cholesterolį per ABCG1, SRB1 gali prisijungti ir disko formos DTL, kuris atvirkščiai nei sferinės formos DTL cholesterolį dar prisijungia ir per ABCA1 [26]. Be to, subrendusios DTL, dėka fosfolipidus pernešančio baltymo, gali įgyti daugiau paviršiaus fosfolipidų, o mažesni DTL gali susilieti tarpusavyje ir tapti didesnėmis dalelėmis [31]. O laisvą cholesterolį difuzijos būdu gali perimti ne tik iš ląstelių, bet ir iš kitų lipoproteinų, eritrocitų membranų ar net albuminų, kurie perneša cholesterolį [8]. Iš lipoproteinų jie gali gauti ne tik cholesterolį, bet ir apolipoproteinus. Kai LMPL dalelės veikia LPL, jie netenka perteklinių apolipoproteinų, tokių kaip apo C-II, apo C-III, apo E, kurie pernešami į DTL [27]. Taigi šio proceso metu prie įvairių DTL pogrupių gali prisijungti daugybė serumo baltymų bei kitų lipidų dalių, kurie tam tikrais būdais gali prisidėti prie antiaterogeninės funkcijos [32].

Kalbant apie apsisaugojimą nuo širdies ir kraujagyslių ligų, svarbiausia su cholesteroliu susijusi DTL funkcija yra lipidų pašalinimas iš arterijų sienelėse esančių steroliais užpildytų makrofagų, vadinamųjų putotojų ląstelių. Šis procesas, makrofagų grįžtamasis cholesterolio transportas, vyksta tiek difuzijos būdu, tiek dalyvaujant pernešėjams: ABCA1 ir G1 bei SRB1, kurie tarpininkauja cholesterolio išnešime [8].

Prisotinti fosfolipidais bei cholesteroliu, tačiau turintys nedaug trigliceridų DTL turi keletą būdų, kaip pašalinti juose susikaupusius lipidus. 1) Cholesterolio esteriai pernešami į kitus lipoproteinus, tarpininkaujant cholesterolio esterius pernešančiam baltymui (CETP), o mainais gaunami trigliceridai. Šis procesas gali vykti tarp DTL ir apo B turinčių dalelių arba tarp dviejų skirtingų DTL dalelių. Tokie mainai atitinkamai vadinami heterotipiniais arba homotipiniais

[33]. Kadangi daugiausia apo B turi MTL, todėl dažniausiai heterotipiniai mainai vyksta būtent su šiais lipoproteinais. Stiprūs CETP inhibitoriai, kurie ne tik labai padidina DTL-Ch, bet ir žymiai sumažina MTL-Ch, rodo, kad daugelis MTL molekulių yra gaunamos iš DTL [34]. MTL ar kitos apo B turinčios dalelės, gavusios CE gali keliauti į kepenis ar žarnyną, tai vadinama netiesioginiu grįžtamoju cholesterolio transportu. Manoma, kad DTL dalelės, prisijungusios trigliceridus per CETP mainus, turi padidintą tikimybę tapti kepenų lipazės substratais. Veikiant kepenų lipazei, DTL dalelės tampa mažesnėmis sferinėmis DTL ar net pre β -DTL dalelėmis. Dėl tokių pokyčių DTL dalelės gali vėl kartoti savo ciklą [8]. 2) Kita galimybė – tiesioginis cholesterolio išnešimas iš pačių DTL į kepenis ar ląsteles ir audinius, kurie yra kaip cholesterolio saugojimo organai, tada procesas vyksta tarpininkaujant SRB1 [8,35]. 3) Taip pat DTL dalelės gali dalyvauti tiesioginiame grįžtamojo cholesterolio transporte per kitus kepenų receptorių, pavyzdžiui, cholesterolio esteriai gali būti pašalinami tarpininkaujant apo E receptoriams [8].

Kepenys gautą cholesterolį gali panaudoti įvairiai: jis gali būti verčiamas į tulžies rūgštis, naudojamas kepenų ląstelių membranoms, įtrauktas į naujai formuojamų LMTL sudėtį, išneštas iš ląstelės apo AI molekulei arba tiesiogiai išskirtas į tulžį per nuo ATP priklausomus pernešėjus G5 ir G8 (ABCG5, ABCG8). Žarnynas taip pat gali skatinti cholesterolio išskyrimą. Šis kelias vadinamas transintestinaliu cholesterolio išnešimu (TICE). Tikslus mechanizmas, kuriuo TICE skatina cholesterolio išskyrimą į žarnyną, nėra žinomas, tačiau manoma, kad jis tiesiogiai susijęs su cholesterolio pernešimu iš DTL arba apo B turinčių lipoproteinų į enterocitą, kuris tada išskiria jį į žarnyno ertmę [8].

Didelio tankio lipoproteinų apykaita yra sudėtingas procesas, kuris prasideda nuo apo AI sintezės, tęsiasi kitų medžiagų prijungimu formuojant DTL dalelę. Vykstant įvairiems mainams, DTL dalelė keičiasi ne tik sudėtimi, bet ir dydžiu, forma bei tankiu. Tapusios brandžiomis ir prisotinusios cholesterolio esterių, DTL dalelės juos gali pernešti į kitus lipoproteinus arba tiesiogiai perduoti į kepenų ląsteles ar kitus audinius, kur cholesterolis bus vėl panaudojamas arba pašalinamas.

1.2.5.1. Didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo geba

Dar 1951 m. buvo pripažinta atvirkštinė priklausomybė tarp didelio tankio lipoproteinų koncentracijos ir išeminės širdies ligos [36]. O kiek vėliau epidemiologiniai įrodymai parodė, kad mažas DTL-Ch kiekis yra nepriklausomas širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksnys [37]. Naujesni tyrimai šią priklausomybę patvirtino [38]. Tai paskatino iškelti hipotezę, kad DTL-Ch yra susijęs su ŠKL vystymusi ir apsaugo nuo aterosklerozės [39]. Tačiau vėliau pradėta abejoti šia hipoteze, nes DTL buvo nustatomas per jų cholesterolio dalį (DTL-Ch), kuri buvo neteisingai

įvardijama, kaip aktyvios ir funkcionalios DTL koncentracijos sinonimas. Toks patrauklus, tačiau netikslus DTL suvokimas neatspindėjo kai kurių problemų: pirma, cholesterolis sudaro tik apie ketvirtadalį vidutinės DTL dalelės masės; antra, yra keletas tyrimų, kuriuose aukšta DTL-Ch koncentracija yra susijusi su padidėjusiais, o nesumažėjusiais širdies ir kraujagyslių sutrikimų dažniais; trečia, DTL dalelės skiriasi pagal savo tankį, dydį, formą, sudėtį, bei krūvį; ketvirta, DTL veikia kaip transportinė dalelė baltymams ir kitoms medžiagoms [40]. Taigi DTL-Ch koncentracijos tyrimas gali būti nenaudingas, kai norima nustatyti ŠKL riziką. Tačiau galima naudoti funkcinį tyrimą – cholesterolio išnešimo gebą. Įvardinta geba gali būti kaip biologinis žymuo, siekiant įvertinti kraujagyslių ligas [9]. Tyrimai rodo, jog minimas aktyvumas, atsispindintis žymėto cholesterolio judėjime iš kultivuotų makrofagų ląstelių linijos į plazmą, kurioje nėra apo B dalelių, yra atvirkščiai susijęs su širdies ir kraujagyslių sutrikimais [3].

Cholesterolio išnešimo geba (*cholesterol efflux capacity* – CEC) – tai matas, rodantis DTL gebėjimą skatinti cholesterolio šalinimą iš makrofagų, kurie prisipildę lipidų. CEC yra pirmasis grįžtamojo cholesterolio transporto etapas [6]. Makrofaguose esantis cholesterolis į plazmą gali būti išskirtas naudojant šiuos kelius: 1) pasyvią difuziją per vandeninę fazę; 2) palengvintą difuziją, kurioje tarpininkauja B1 tipo receptoriaus „rijikas“ (SRB1); 3) aktyvią pernešą, kuri valdoma nuo ATP priklausomų pernešėjų G1 ir AI (ABCG1 ir ABCA1). Taigi cholesterolio išnešimo geba priklauso nuo difuzijos, ABCA1, ABCG1 ir SRB1. O minėtiems cholesterolio išnešimo keliams įtakos gali turėti akceptorius (DTL) sudėtis. Tai, jog cholesterolio išnešimas tikrai priklauso nuo DTL, yra užfiksuota tyrimais, kuriais buvo matuojamas laisvo cholesterolio išnešimas iš kultivuotų ląstelių į DTL. Tyrimuose buvo naudojama plazma, neturinti apo B, kuri buvo inkubuojama su makrofagais, turinčiais daug cholesterolio. Po to buvo išmatuojamas radioaktyviu arba fluorescenciniu būdu žymėtas cholesterolio kiekis, kuris buvo išneštas į plazmą [40]. Remdamiesi tokiais tyrimais, tyrėjai atskleidė, kad DTL valdomas cholesterolio išnešimas yra susijęs širdies ir kraujagyslių sutrikimais [3], ŠKL sukeltomis mirtimis [41] nepriklausomai nuo DTL-Ch koncentracijos [40].

Kiekvieno kelio, kuriuo gali būti išnešamas cholesterolis, svarba yra skirtinga. Apie 30–40% makrofagų cholesterolio išnešama tarpininkaujant ABCA1. ABCA1 pernešėjas yra būtinas DTL brendimui iš mažų tankių dalelių, sudarytų iš apo AI, į didesnius sferinius lipoproteinus, turinčius daugiau cholesterolio esterių. Tačiau ne ABCA1 pernešėjai atlieka svarbiausią vaidmenį pernešant cholesterolį į jau subrendusius sferinius DTL [42]. Atliekant in vitro tyrimus su pelių makrofagais, paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo būdai skiriasi priklausomai nuo ląstelėse esančio cholesterolio kiekio. Buvo išaiškinta, jog ABCA1 turi nedidelį efektą cholesterolio išnešimui iš makrofagų, kuriuose cholesterolio kiekis yra normalus. Šiuo atveju daugiausiai cholesterolio išnešama difuzijos būdu. Tačiau esant dideliame cholesterolio kiekiui

makrofaguose, svarbiausias vaidmuo tenka ABCA1 pernešėjui, net 50% visos išnešimo gebos. Daug mažesnė svarba tenka ABCG1 pernešėjui, jo dėka vyksta tik apie 20% cholesterolio išnešimo. Taip pat įrodyta, jog SRB1 įnašas į šią funkciją yra labai nedidelis [26]. Apibendrinant, cholesterolio judėjimas priklauso nuo DTL ir makrofagų.

Siekiant nustatyti CEC ilgą laiką buvo naudojamas radioizotopais žymėtas cholesterolis. Šis žymėjimo būdas buvo tradicinis cholesterolio išnešimo matavimo metodas. Tačiau minėtasis metodas turi apribojimų dėl aukšto našumo nustatymo, yra ilgai trunkantis ir kenksmingas žmogui. Norint išvengti minėtų trūkumų, tradicinis metodas keičiamas į fluorescencinę intensyvumo matavimo sistemą, tai yra siekiant nustatyti CEC cholesterolį reiktų žymėti fluorescencine žyme [43].

1.2.5.2. Cholesterolio išnešimo gebos tyrimų analizė, straipsnių apžvalga

Cholesterolio išnešimo geba – grįžtamojo cholesterolio transporto pradžia – dažniausiai vertinamas DTL funkcinis aktyvumas gyvuose organizmuose. Paskutiniaisiais metais cholesterolio išnešimo gebos tyrimai buvo sėkmingai vykdomi klinikinėje praktikoje, siekiant nustatyti žymėto cholesterolio išnešimo gebą iš makrofagų. Tačiau atliktų tyrimų rezultatai prieštaringi, todėl Chengfeng Qiu, Xiang Zhao, Quan Zhou ir Zhen Zhang (2017) nusprendė atlikti metaanalizę bei dozės-atsako analizę, kad būtų įvertintas ryšys tarp cholesterolio išnešimo gebos bei širdies ir kraujagyslių sistemos ligų (ŠKL) rizikos, tai yra jog būtų nustatyta rizika sirgti šiomis ligomis pagal cholesterolio išnešimo gebą. Ši informacija svarbi siekiant sumažinti širdies ir kraujagyslių ligų grėsmę [44].

Siekiant įvykdyti išsikeltą tikslą, tyrėjai į metaanalizę įtraukė 15 straipsnių su 16364 dalyviais. Tinkamų duomenų paieška buvo pradėta nuo 140 straipsnių, po to susipažinus su santraukomis, dauguma buvo atmesti, o likusieji išnagrinėti atidžiau, tačiau analizei tiko tik 15 straipsnių. Nagrinėjamuose straipsniuose dalyvių amžius buvo nuo 42 iki 72 metų. Iš atrinktų tyrimų net 12 buvo kohortiniai, atliekant jų analizę buvo siekiama nustatyti ryšį tarp cholesterolio išnešimo gebos ir širdies bei kraujagyslių sutrikimų. 4 tyrimai buvo įtraukti į dozės-atsako analizę, 8 – įvertinti ŠKL paplitimą, 5 – visų atvejų mirties rizikos įvertinimui. Visi statistiniai vertinimai, skaičiavimai aptariami toliau [44].

Atliekant duomenų metaanalizę, tyrėjai naudojo santykinę riziką (RR) su 95% pasiklovimo intervalu kaip efekto dydžio priemonę, siekiant įvertinti ryšį tarp sergamumo ŠKL, mirtingumo ir DTL cholesterolio išnešimo gebos (CEC). Efekto dydis buvo skaičiuojamas remiantis didžiausių ir mažiausių cholesterolio išnešimo gebų palyginimu. Atliktų tyrimų santykinės rizikos arba rizikų santykiai (HR) buvo sujungiami. Šansų santykiai (OR) ir 95% pasiklovimo

intervalai taip pat buvo sujungti, kad būtų galima įvertinti ryšį tarp cholesterolio išnešimo gebos ir ŠKL atvejų skaičiaus. Dozės-atsako metaanalizei naudotas Grienlando ir Longnekerio mažiausiųjų kvadratų metodas. Tyrėjai galimą dozės-atsako santykį apskaičiavo dviem etapais. Pirmame etape buvo apskaičiuotas kubinis splaino modelis su trimis saitais ties 10%, 50%, 90% procentilėmis, cholesterolio išnešimo gebos lygio paskirstymui. Antrame etape du regresijos koeficientai ir variacijos-kovariacijos (dispersijos) matrica buvo sujungti į įvairių, atsitiktinių poveikių metanalizę. P reikšmė netiesiškumui buvo skaičiuojama tikrinant nulinę hipotezę: ar antrojo splaino koeficientas lygus 0. Taip pat į statistinę analizę buvo įtrauktas chi-kvadratas, Begso koreliacijos testas, Egerio linijinės regresijos testas. Taigi siekiant įvertinti kaip priklausomai nuo CEC keičiasi sergamumas ŠKL buvo pasitelktas ne vienas tyrimas, sujungti jų gauti rezultatai ir įvertinama bendrai. Buvo skaičiuojama santykinė rizika, rizikos santykis, šansų santykis, jų pasiklovimo intervalai [44].

Aptartais statistiniais įrankiais buvo pateikti rezultatai, kuriuos vertinant buvo padarytos atlikto tyrimo išvados. Pirmiausia, buvo stiprus atvirkštinis ryšys tarp DTL CEC ir ŠKL atvejų dažnumo. Dozės-atsako analizė atskleidė tiesinį, nuo dozės priklausomą ryšį: širdies ir kraujagyslių ligų (ŠKL) rizika sumažėdavo, padidėjus CEC. Antra, tarp CEC ir ŠKL atvejų paplitimo taip pat nustatytas atvirkštinis ryšys. Trečia, nors buvo tikėtasi susieti DTL CEC su visų atvejų mirtingumu, tačiau remiantis dabartiniais duomenimis, gauti rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi. Apibendrinant autoriai pabrėžia, jog svarbu suvokti CEC vaidmenį ŠKL rizikai mažinti [44].

Cholesterolio išnešimo gebos svarba taip pat analizuojama Beatriz Tejera-Segura ir kitų autorių straipsnyje (2017). Čia svarbiausias dėmesys skiriamas CEC, subklinikinei aterosklerozei ir reumatoidiniam artritui. Paminėta, jog pacientai sergantys reumatoidiniu artritu pasižymi didesniu sergamumu ir mirtingumu, šiems pacientams priskiriama didesnė grėsmė sirgti ŠKL. Kai kurie tyrimai parodė, jog reumatoidinį artritą (RA) lydi labiau aterogeniški (sukeliantys aterosklerozę) lipidų profiliai, kurių buvimas koreliuoja su ligos aktyvumu. Tikslus lipidų profilio pasikeitimo mechanizmas, sergantiems RA, ir poveikis širdies bei kraujagyslių ligoms vis dar tiriamas. Autoriai teigia, jog sutrikusio CEC poveikis, subklinikinės aterosklerozės vystymuisi, kai sergama RA, nėra ištirtas. Todėl šio tyrimo tikslas buvo išanalizuoti, ar CEC yra susijusi su subklinikine ateroskleroze, kurią lemia aterosklerozinės plokštelės ar padidėjęs miego arterijos intimos-medijos storis, pacientams, sergantiems RA [45].

Atlikus statistinę analizę buvo gauti ne visai tokie rezultatai, kurių buvo tikėtasi. Apskaičiuota vidutinė CEC reikšmė statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp pacientų, sergančių RA, ir kontrolinių subjektų ($p = 0,11$). Tačiau nustatyta, jog žemas bei vidutinis RA ligos aktyvumas yra susijęs su žemesniu CEC lygiu, lyginant su remisija. Nors jokio ryšio su miego

arterijos intimos-medijos storio nebuvo rasta, visgi buvo nustatyta, jog didesnė CEC yra nepriklausomai susijusi su mažesne aterosklerozinės plokštelės buvimo rizika pacientams, sergantiems RA [45].

1.3. Aterosklerozė

Aterosklerozė pažodžiui reiškia „arterijų sukietėjimą“; tai bendras terminas, nusakantis arterijų sienelių sustorėjimą ir elastingumo praradimą [1]. Teigiama, jog aterosklerozė pradeda vystytis dar jauname amžiuje ir vystosi iš lėto, kol pasiekia aktyvią stadiją [46]. Aktyvi stadija – tai ilgo lėtinio proceso pasekmė.

Pagrindinės aterosklerozės pasekmės yra miokardo infarktas, smegenų infarktas (insultas), aortos aneurizmos ir periferinių arterijų liga (kojų gangrena) [1]. Tai parodo, jog aterosklerozė yra kitų ŠKL priežastis.

Tai labai aktuali problema, kadangi stebimas vis dažnesnis ŠKL pasireiškimas jaunesniame amžiuje, jaunesniems nei 65 m. žmonėms [47]. Atsižvelgiant į šį faktą, svarbu suvokti, kas skatina aterosklerozės vystymąsi, tai yra kokie yra rizikos veiksniai. Prie pagrindinių rizikos veiksnių priskiriamas padidėjęs MTL-Ch kiekis, rūkymas, 2 tipo cukrinis diabetas, hipertenzija ir šeimos anamnezėje esantys išeminės širdies ligos, insulto, periferinių arterijų ligos atvejai. Kitos sąlygos, didinančios riziką, yra mažas DTL kiekis, pilvinis nutukimas, hipertrigliceridemija, didelis lipoproteino (a) kiekis plazmoje, hiperfibrinogenemija, homocisteino koncentracijos plazmoje padidėjimas, C reaktyvus baltymas, fizinis neveiklumas ir kiti veiksniai, kurie yra labiau susiję su psichosocialine sritimi: stresas (patiriamas darbe, dėl įvairių gyvenimo įvykių), reakcijos į stresą (depresija, nerimas, miego sutrikimai). Svarbu paminėti, jog C reaktyvus baltymas yra uždegiminis žymuo, kuris padeda prognozuoti ŠKL išsivystymą, nes atspindi aterosklerozinių pažeidimų vietose esantį nuolatinį uždegimą, o besitęsiantis uždegimas tik pagreitina aterosklerozės vystymąsi. Tačiau tarp C reaktyvaus baltymo ir aterosklerozės nėra priežastinio ryšio [27].

Prieš tai minėtas mažas DTL kiekis vis rečiau laikomas rizikos veiksniu, kadangi naujausi tyrimai rodo, jog didėjantis cholesterolio išnešimas iš makrofagų, esančių vidiniame arterijų sienelių sluoksnyje, gali suteikti apsaugą prieš aterosklerozės formavimąsi, nepriklausomai nuo DTL-Ch koncentracijos plazmoje [5]. Jog DTL-Ch koncentracijos vertė yra abejotina parodė ir terapijos, kurių metu DTL kiekis buvo didinamas, tačiau norimo efekto nebuvo sulaukta [9]. Taigi didėja DTL funkcinio aktyvumo – cholesterolio išnešimo gebos, svarba.

DTL funkcinis aktyvumas yra svarbus stabdant aterosklerozės vystymąsi, tačiau pirmiausia, reikia suvokti aterosklerozės patogenezės pradžią ir eigą. Čia svarbiausias vaidmuo tenka MTL.

Aterosklerozės patogenezė prasideda MTL patekus į subendotelį, kuriame MTL ir ekstraląstelinių matricos komponentų, pavyzdžiui, proteoglikanų, sąveika lemia MTL sulaikymą ir kaupimąsi kraujagyslės sienelėje. Tokių MTL sulaikymą ir kaupimąsi dar labiau sustiprina įvairios modifikacijos (MTL glikozilinimas, lipolizė, oksidacija, apo B proteolizė) [48]. MTL modifikavimas sukelia uždegiminio atsako kaskadą: lygieji raumenys, riebalinis audinys, trombocitai išskiria chemokinus, endotelis – adhezijos molekules, skatinama neutrofilų, monocitų, limfocitų infiltraciją į kraujagyslių sienelę [49,50]. Migravę į intimą monocitai virsta makrofagais ir dendritinėmis ląstelėmis, o fagocitavę oksiduotus MTL – putotiosiomis ląstelėmis [46]. Dėl šių procesų susidaro lipidiniai ruoželiai, kurie yra ankstyvos aterosklerozės požymiai [49]. Lipidus fagocitavę makrofagai išskiria citokinus ir augimo faktorius, kurie dar labiau suintensyvina uždegiminį procesą [51]. Dėl to prasideda lygiųjų raumenų ląstelių migracija į intimą, jos ten proliferuoja, išskiria ekstraląstelinius matrikso baltymus, kurie formuoja fibrozinę kepurėlę, dengiančią pažeistą kraujagyslės vietą. Galiausiai įvyksta makrofagų apoptozė: visas lipidų kiekis išeina iš ląstelių ir sudaro neląstelinius regionus, kurie vadinami nekrozine šerdimi. Didelės nekrozinės šerdys yra linkusios plyšti [49]. Taigi nesustabdžius aterosklerozės vystymosi, susidaro aterosklerozinė plokštelė, sudaryta iš fibrozinės kepurėlės ir lipidinės šerdies.

Norint sustabdyti aterosklerozės vystymąsi, svarbu tirti veiksnius, galinčius daryti tam įtaką. Ankstesni epidemiologiniai tyrimai atskleidė atvirkštinę priklausomybę tarp mažos DTL-Ch koncentracijos ir ŠKL grėsmės, todėl daugelį metų buvo manoma, jog didesnė DTL-Ch koncentracija padeda sumažinti ŠKL riziką. O maža šio cholesterolio koncentracija buvo priskirta prie aterosklerozės ir kitų ŠKL rizikos veiksnių. Tačiau naujausi tyrimai leido suabejoti šiomis teorijomis. Atliktos terapijos parodė, jog didinamas DTL-Ch kiekis nesumažina ŠKL rizikos. Taip pat buvo nustatyta, jog būtent didesnė cholesterolio išnešimo geba suteikia apsaugą nuo aterosklerozės formavimosi, nepriklausomai nuo didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos plazmoje. Todėl siekiant įvertinti aterosklerozės vystymosi riziką ir dažniausios mirties priežasties (ŠKL) pasireiškimo grėsmę, kur kas tikslesnis metodas gali būti cholesterolio išnešimo gebos nustatymas.

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

2.1. Tiriamoji grupė

Tiriamųjų grupė – „Aterostres“ projekto dalyviai. Į tyrimą buvo įtraukti sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys, jauni (25–40 m.) ir vidutinio amžiaus (41–55 m.) vyrai (n = 172). Pirmojo tyrimo dalyvių vizito Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Šeimos medicinos centre metu tiriamieji buvo supažindinami su tyrimu, o sutikę dalyvauti tyrime pasirašė „Informuoto asmens sutikimo formą“. Tiriamiesiems asmenims buvo išmatuoti antropometriniai rodikliai (ūgis, svoris, liemens apimtis), arterinis kraujo spaudimas. Antrojo vizito metu buvo paimami veninio kraujo ėminiai. Lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio (B-Ch), trigliceridų (TG), MTL cholesterolio (MTL-Ch), DTL cholesterolio (DTL-Ch)) koncentracijos kraujo serume tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centre. Taip pat šio tyrimo metu tiriamiesiems buvo nustatyta cholesterolio išnešimo geba.

2.2. Tyrimo metodai

2.2.1. Ląstelių kultivavimas ir DTL cholesterolio išnešimo geba

2.2.1.1. Reagentai ir priemonės

- J774a.1 makrofagų linija („ATCC“, JAV);
- Penicilino (10 mg/L), streptomicino (10000 U/mL) mišinys („Biological Industries“, Izraelis);
- cAMP (ciklinis adenozino monofosfatas) („Sigma-Aldrich“, JAV);
- Dezinfektantas „Bacillol AF“ („Bode Chemie GmbH“, Vokietija);
- Distiliuotas vanduo;
- Etanolis (96^o) (UAB „Gintarinė vaistinė“, Lietuva);
- FBS – fetalinis jaučio serumas („Biological Industries“, Izraelis);
- NBD-6-cholesterolis („Avanti Polar lipids“, JAV);
- PBS – fosfatinio buferio tirpalas („Lonza“, Vokietija);
- PEG – polietilenglikolis (PEG-6000) („Sigma-Aldrich“, JAV);
- RPMI-1640 terpė („Biological Industries“, Izraelis);
- Tripano mėlis („Lonza“, Vokietija);
- Tripsinas („Biological Industries“, Izraelis);

- Triton X-100 („Sigma-Aldrich“, JAV).

2.2.1.2. Ląstelių kultivavimas

J774a.1 ląstelių linija gauta užšaldyta sausame lede (-60°C). Kitą dieną ląstelės atšildytos vandens vonelėje (37°C) ir perkeltos į flakoną su paruošta augimo terpe (5 mL): 89% RPMI-1640, 1% penicilino ir streptomicino mišinio, 10% FBS (fetalinio jaučio serumo). Tai atlikus flakonas buvo padedamas į 37°C termostatą su 5% CO₂. Tada flakono dangtelis buvo šiek tiek atsukamas, bet ne per daug, jog nenukristų. Termostatas uždaromas ir ląstelės ten paliekamos iki kitos dienos.

Ląstelių augimas stebimas kasdien ir tam vedamas protokolas, kuriame nurodomas ne tik jų užaugimas, bet ir morfologija bei atliekami veiksmai (3 pav.).

2018-01-24 14:10

A1/1 – 50%, terpės spalva nepakitusi, ląstelių morfologija taip pat. B – 40%, ląstelės be tamsių vakuolių, dauguma apvalios, daugėja verpstinių ląstelių, gausu suspensijos ląstelių, ląstelės linkusios formuoti kolonijas. Morfologija nepakitusi, terpės spalva taip pat. Nieko nedaroma.

2018-01-25 10:45

A1/1 - 60%, gausu suspensijos ląstelių; adhezinės ląstelės linkusios formuoti kolonijas, gausu verpstinių ląstelių, ląstelių citoplazmoje stebimos tamsios vakuolės. Ląstelių morfologija tokia pati, terpė pakeitė spalvą. A1/1 flakone terpė keičiama 5 mL šviežios terpės (10%FBS, 1%AB/RPMI-1640). B – 55%, ląstelių viduje nestebima tamsių vakuolių, dauguma apvalios, daugėja verpstinių ląstelių, ląstelės linkusios formuoti kolonijas, gausu suspensijos ląstelių. Morfologija nepakitusi, terpės spalva taip pat. Terpė pakeičiama siekiant, jog ląstelės greičiau augtų ir joms netrūktų mitybinių medžiagų. B flakone terpė keičiama 5 ml. šviežios terpės (10%FBS, 1%AB/RPMI-1640).

3 pav. Protokolo pavyzdys

Ląstelėms augant normaliai, augimo terpė keičiama maždaug kas dvi dienas, atsižvelgiant į jos spalvinį pokytį, tai yra rožinės spalvos kitimą į gelsvą ar rusvą atspalvį. Prireikus pakeisti terpę, ji išsiurbžiama iš flakono ir ląstelės 2 kartus praplaunamos su 2 mL kambario temperatūros PBS (fosfatinio buferio tirpalo). Svarbu, jog PBS iš flakono būtų pašalintas ir po pirmo, ir po antro plovimo. Tai atlikus įleidžiama šviežia terpė (5 mL) ir flakonas vėl paliekamas termostate.

Ląstelėms pasiekus 90% užaugimą, jos dalinamos tripsinizacijos būdu. Pirmiausia, nusiurbžiama terpė ir ląstelės 2 kartus praplaunamos su PBS (laikomasi tų pačių reikalavimų kaip ir keičiant terpę). Tada į flakoną įleidžiamas 1 mL tripsino, su kuriuo ląstelės termostate laikomos 8 minutes. Tripsino lizuojantis poveikis padeda lengviau atkabinti ląsteles nuo flakono paviršiaus. Praėjus laikui, tripsino poveikis stebimas su inversiniu mikroskopu, jei matomi ląstelių atkibimo požymiai, procedūra tęsiama: į flakoną įleidžiamas 1 mL augimo terpės ir atkabinimas baigiamas su automatine pipete. Neatkibusios ląstelės mechaniškai nugrandomos

nuo plastikinio paviršiaus. Svarbu, jog tai būtų atliekama kuo švelniau ir greičiau. Atkabinus ląsteles, tripsino veikimas stabdomas 3 mL augimo terpės. Ląstelių, tripsino ir terpės mišinys perkeliamas į mėgintuvėlį ir centrifuguojamas 5 minutes 1500 aps./min. greičiu. Po centrifugavimo atsiskyręs supernatantas pašalinamas, o į nusėdusias ląsteles įleidžiamas 1 mL augimo terpės ir viskas suspenduojama. Paimamas ependorfinis mėgintuvėlis, į kurį įleidžiama 90 µL tripano mėlio ir 10 µL mišinio su ląstelėmis. Tada tripano mėlis ir ląstelės suspenduojamos. Pasiruošiama Fuks-Rozentalio kamera, kurios pagalba bus apžiūrimas ląstelių gyvybingumas ir skaičiuojama koncentracija. Tada ant skaičiavimui paruoštos kameros dedamas 10 µL tripano mėlio ir ląstelių mišinys, kuris stebėtas šviesiniu mikroskopu. Jei apžiūrėtų ląstelių gyvybingumas didelis, jos skaičiuojamos 4 laukuose ir pagal gautą ląstelių skaičių paimamas toks mišinio kiekis (ląstelių ir augimo terpės), kurį sumaišius su 5 mL augimo terpės, gausime 1×10^5 (ląstelių)/mL koncentraciją. Toks apskaičiuotas tūris įleidžiamas į naują flakoną ar flakonus su 5 mL augimo terpės. Tada flakonai vėl dedami į termostatą.

Visi veiksmai su ląstelėmis, kurie reikalauja flakono atidarymo, atliekami tik traukos spintoje su steriliomis priemonėmis. Visos priemonės naudojamos pagal paskirtį: prireikus išsiurbti ar įleisti didesnę tūrį, naudojama 5mL pipetė su automatiniu pipečių dozatoriumi, o prireikus paimti tikslų ir nedidelį tūrį, naudojama automatinė pipetė su antgaliais. Atliekos išmetamos į tam skirtą vietą. Taigi ląstelių kultivavimas yra daug laiko ir kruopštumo reikalaujantis metodas.

2.2.1.3. DTL cholesterolio išnešimo geba

In vitro cholesterolio išnešimo metodas leidžia nustatyti cholesterolio išnešimą iš užaugintų ląstelių. Cholesterolio pažymėjimas (šiuo atveju, fluorescencine žyme) ir jo inkorporavimas į cholesterolio donorines ląsteles, pelės makrofagus, sukuria efektyvų ir jautrų metodą, leidžiantį nustatyti visą cholesterolio išnešimą. Norint nustatyti cholesterolio išnešimą, reikia, jog makrofagai būtų perpildyti cholesteroliu, nes jei cholesterolio koncentracija bus normali, vyks dvikryptis cholesterolio judėjimas (iš ląstelės ir į ją). Dalinis cholesterolio išnešimas iš juo perpildytų ląstelių, leidžia įvertinti tiriamų akceptorių funkcinį efektyvumą. Svarbu pažymėti, jog cholesterolio pernešėjų reguliacija gali skirtis priklausomai nuo rūšies. Pavyzdžiui, cAMP stimuliuoja lipidų išnešimą iš pelės makrofagų, tačiau žmogaus makrofagų neveikia [5].

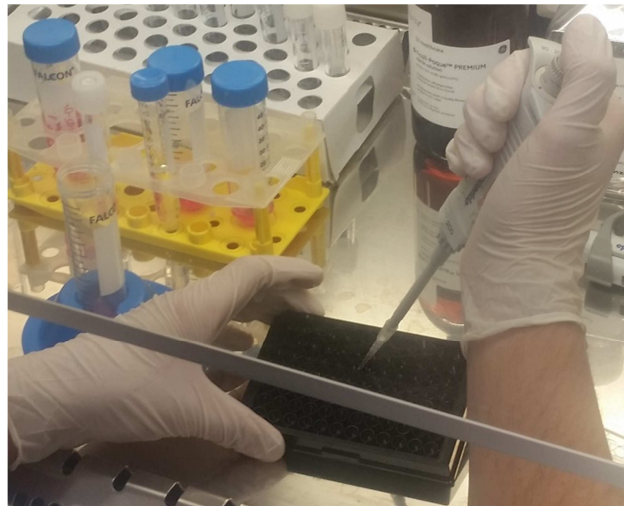
2.2.1.3.1. Ląstelių auginimas

Kai flakonuose auginamos J774a.1 linijos ląstelės tampa tinkamos naudoti tyrimui (nematoma daug nuolaužų, vyrauja verpstinė ląstelių forma) ir jų užaugimas siekia maždaug 90%, jos užsėjamos į 96 šulinėlių lėkšteles: į kiekvieną iš šulinėlių įleidžiant po 100µl RPMI-

1640 terpės be priedų ir 2×10^5 ląstelių. Tada ląstelės laikomos 2 valandas 37°C termostate su 5% CO_2 . Praėjus laikui, tikrinama, ar jos prikibo prie lėkštelių, tai atliekama su inversiniu mikroskopu (4 pav.). Jei ląstelės prikibo, terpė nusiurbžiama ir ląstelės praplaunamos su 100 μL PBS (5 pav.). Toliau atliekamas ląstelių žymėjimas cholesteroliu.



4 pav. Ląstelių prikibimo prie lėkštelės šulinio dugno vertinimas inversiniu mikroskopu



5 pav. Ląstelių auginimo etapas: nuolaužų pašalinimas su PBS

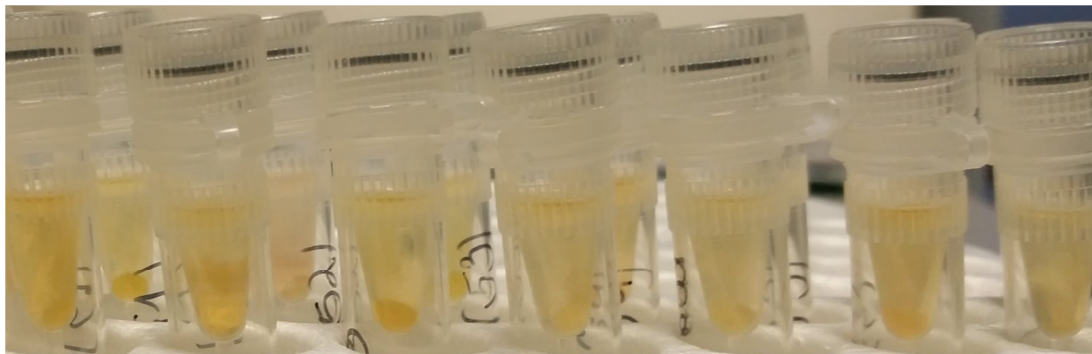
2.2.1.3.2. Ląstelių žymėjimas cholesteroliu

Ląstelių žymėjimui naudojamas NBD-6-cholesterolio tirpalas, kuris sumaišomas su RPMI-1640 terpe be priedų taip, jog būtų pasiekama norima cholesterolio koncentracija (10 $\mu\text{mol/L}$) (3 lentelė). Paruošus šį mišinį, jis kuo skubiau paskirstomas, įleidžiant į šulinėlius po 100 μL . Viską svarbu atlikti kuo greičiau ne tik dėl ląstelių patiriamo streso, bet ir dėl to, jog fluoroforas jautrus šviesai. Tai atlikus, ląstelės su cholesteroliu inkubuojamos termostate maždaug 4–8 valandas.

2.2.1.3.3. Cholesterolio akceptorių paruošimas

Paruoštas 20% PEG vandeninis tirpalas (3 lentelė) sumaišomas su serumu santykiu: 1 : 2,5 (PEG : serumas). Buvo imama 150 μL serumo ir 60 μL 20% PEG vandeninio tirpalo. Tada

mišinys 20 minučių inkubuojamas kambario temperatūroje ir po to 30 minučių centrifuguojamas 10000 aps./min. greičiu (6 pav.).



6 pav. Nucentrifuguoti serumo ir 20% PEG mišiniai (tyrime naudotas viršutinis sluoksnis)

2.2.1.3.4. Ląstelių inkubacija su cholesterolio akceptoriais

Nuo lėkštelėse esančių ląstelių nusiurbiamą terpę, jos vieną kartą praplaunamos su 100 μ L PBS. Kiekvienam pacientui skiriami keturi šulinėliai (trys – pakartojimams ir vienas – teigiamai kontrolei). Į kiekvieną šulinėlį įleidžiama po 25 μ L cholesterolio akceptorių (5 pav.) (išskyrus neigiamą kontrolę), kurie buvo paruošti centrifuguojant serumą su 20% PEG vandeninio tirpalo, ir 75 μ L RPMI-1640 terpės be priedų. Į teigiamos kontrolės šulinėlius papildomai įleidžiama 20 μ L 3mmol/L koncentracijos cAMP vandeninio tirpalo (3 lentelė). O į neigiamos kontrolės šulinėlius, kurių kiekvienai lėkštei buvo keturi, įleidžiama tik RPMI-1640 terpės, tai yra šulinėliai yra be cholesterolio akceptorių. Tai atlikus, lėkštelės termostate inkubuojamos 4 valandas.

2.2.1.3.5. Ruošimas matavimui

Pasibaigus inkubacijai, terpė su serumu nusiurbiamą į kitą, 96 šulinėlių, lėkštelę. Ląstelės 10 minučių lizuojamos kambario temperatūroje 100 μ L 1% Triton X-100 vandeniniu tirpalu (3 lentelė). Tai atlikus, matuojamas terpės ir serumo (FI (S+T)) bei atskirai lizato (FI (L)) fluorescencijos intensyvumas (sugertis 466 nm, emisija fiksuojama 535 nm). Apskaičiuojama cholesterolio išnešimo geba %:

$$\text{Išnaša (\%)} = \frac{\text{FI (S+T)}}{\text{FI(S+T)+FI (L)}} \times 100\%$$

FI (S+T) – nusiurbtos terpės ir serumo fluorescencijos intensyvumas;

FI (L) – ląstelių lizato fluorescencijos intensyvumas.

3 lentelė. Tirpalų paruošimas (pagal norimą tirti mėginių skaičių)

Tirpalo pavadinimas	Tirpalo paruošimas
1% Triton X-100 vandeninis tirpalas	Paruošimui naudojamas tik Triton X-100 ir distiliuotas vanduo. Sumaišomas atitinkamas santykis, jog būtų gauta norima koncentracija. Triton X-100 blogai tirpsta vandenyje, todėl gaminamas anksčiau ir purtomas, jog ištirptų. Ištirpus paliekamas ilgesniam laikui, kad nusistovėtų.
20% PEG vandeninis tirpalas	Paruošimui naudojamas tik PEG ir distiliuotas vanduo. Sumaišomas atitinkamas santykis, jog būtų gauta norima koncentracija.
3mmol/L cAMP vandeninis tirpalas	Pasverinama ~0,0124 g cAMP ir ištirpdoma 12,5 mL distiliuoto vandens.
10 μmol/L NBD-6-cholesterolio tirpalas	Šis tirpalas gaminamas tamsoje. 1 mg NBD-6-cholesterolio tirpdomas 1 mL 96% etanolio. Gautas tirpalas sumaišomas su RPMI-1640 terpe, jog būtų gauta norima koncentracija.

2.3. Statistinė analizė

Statistinė analizė buvo atliekama su R programiniu paketu ir Microsoft Office Excel 2010 programa. Siekiant įvertinti turimų duomenų pasiskirstymą pagal normalųjį dėsnį, buvo naudojamas Šapiro-Vilko kriterijus. Kadangi cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų rodiklių duomenys nebuvo normalieji, tolimesnei statistinei analizei naudoti neparametriniai kriterijai. Palyginimui tarp dviejų grupių naudotas Vilkoksono kriterijus, o koreliacijai įvertinti buvo naudojamas Spirmeno koreliacijos koeficientas. Gauti rezultatai buvo laikomi statistiškai reikšmingais, kai p reikšmė buvo mažesnė nei 0,05.

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1. Tiriamosios grupės bazinė charakteristika

Tyrime dalyvavo 172 vyrai, kurie buvo suskirstyti į dvi grupes: jaunos (iki 40 m.) ir vidutinio amžiaus (nuo 40 m.) vyrus. Dauguma jų buvo jauni, net 109, tai yra 63,37%, ir tik 63 – vidutinio amžiaus, tai yra 36,63% (4 lentelė).

4 lentelė. Tyrime dalyvavusių vyrų pasiskirstymas pagal amžiaus grupes

Amžiaus grupė	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Jauni (iki 40 m.)	109	63,37
Vidutinio amžiaus (nuo 40 m.)	63	36,63

Į tyrimą įtraukti pacientai buvo daugiausia nerūkantys (n = 140), jie sudarė 82,84%, o rūkantys (n = 29) – 17,16% (5 lentelė). Taigi dauguma neturėjo vieno iš ŠKL rizikos veiksnių. Tačiau beveik pusė (46,75%) tiriamųjų yra rūkę anksčiau (6 lentelė).

5 lentelė. Tyrime dalyvavusių vyrų pasiskirstymas pagal žalingo įpročio (rūkymo) buvimą

Pacientų grupė	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Rūkantys	29	17,16
Nerūkantys	140	82,84

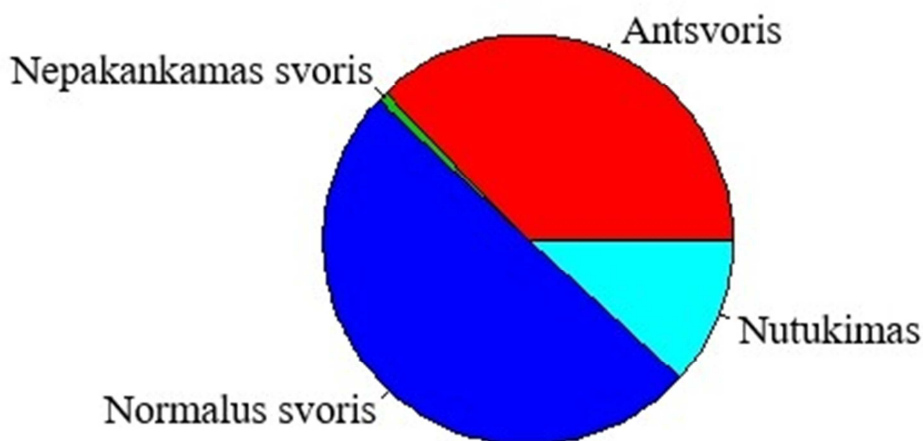
6 lentelė. Tyrime dalyvavusių vyrų pasiskirstymas pagal žalingo įpročio (rūkymo) turėjimą praeityje

Pacientų grupė	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Rūkę	79	46,75
Nerūkę	90	53,25

Tiriamiesiems buvo paskaičiuotos kūno masės indekso (KMI) reikšmės (jos nepasiskirsčiusios pagal normalųjį skirstinį (Šapiro-Vilko testas, $p < 0,05$) (11 lentelė)) ir pagal tai kiekvienas iš pacientų buvo priskirtas atitinkamai KMI grupei. Tyrime dalyvavę vyrai pateko į visas keturias KMI kategorijas, tai yra buvo nepakankamo ir normalaus svorio bei antsvorį ar nutukimą turinčių pacientų. Tik vienas iš jų buvo per mažo svorio, net 64 – turintys antsvorio (37,43%), 20 – nutukę (11,70%), tačiau daugiau nei pusė – normalaus svorio (50,29%) (7 pav., 7 lentelė).

7 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal KMI kategorijas

KMI kategorija	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Nepakankamas svoris	1	0,58
Normalus svoris	86	50,29
Antsvoris	64	37,43
Nutukimas	20	11,70



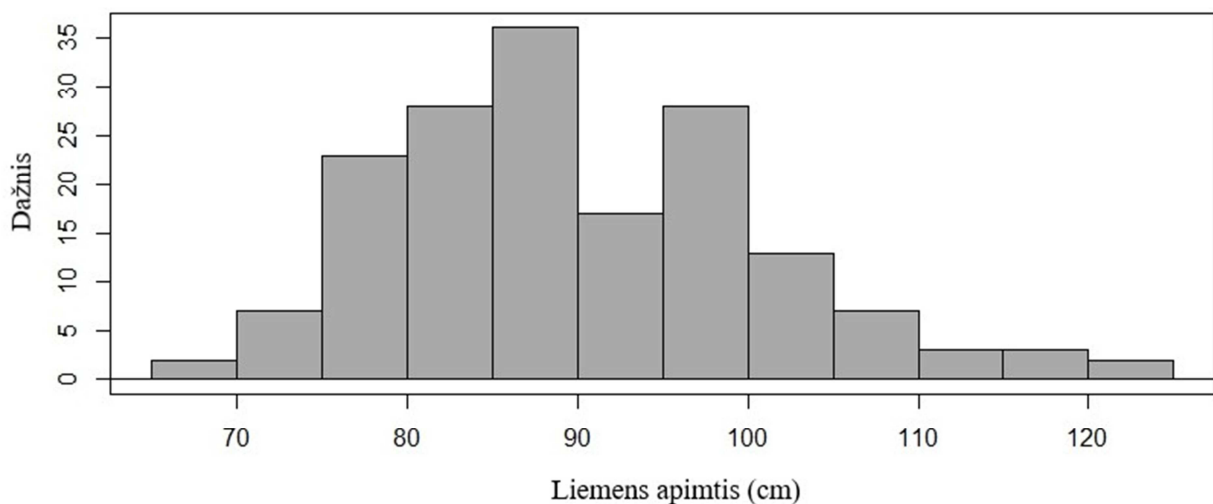
7 pav. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal KMI kategorijas

Ne vien tik per didelis KMI, bet ir liemens apimtis gali padidinti riziką susirgti ŠKL. Liemens matavimas padeda išsiaiškinti, ar ties mūsų juosmeniu nėra riebalų pertekliaus, tai rodiklis, rodantis vidinius riebalų telkinius, kurie gali apjuosti širdį ir kitus vidaus organus. Pasaulinė sveikatos organizacija (PSO) nurodo, jog vyrų liemens apimtis neturėtų būti didesnė nei 94 cm. 65,68% pacientų atitiko PSO rekomenduojamą liemens apimtį (8 lentelė). Liemens apimties (cm) histograma parodo, jog didžioji dauguma vyrų turėjo 80–90 cm liemens apimtį (8 pav.).

Kadangi aptariamo požymio skirstinys nėra normalusis (Šapiro-Vilko testas, $p < 0,05$), būdinga asimetrija, todėl duomenų vidurkis nėra vertinamas (11 lentelė).

8 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal liemens apimtį

Liemens apimtis (cm)	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Normali (<94)	111	65,68
Per didelė (>94)	58	34,32



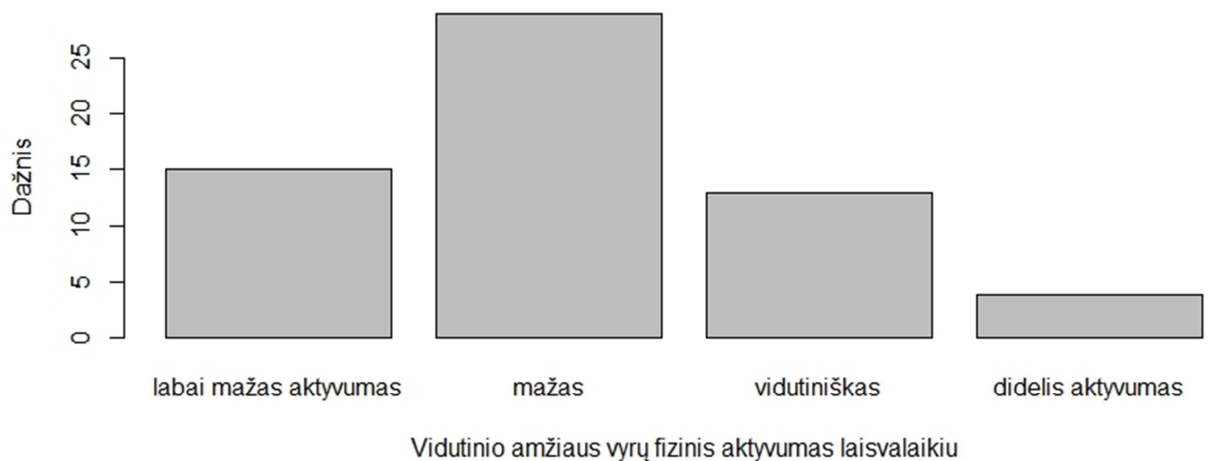
8 pav. Tiriamųjų liemens apimties histograma

Prieš tai pateiktos dažnių lentelės rodo, jog daugiau nei pusė tiriamųjų buvo normalaus svorio ir rekomenduojamos liemens apimties (7, 8 lentelės), tačiau tolimesnė analizė atskleidė, jog tik mažesnė dalis pacientų buvo fiziškai aktyvūs laisvalaikio. 75 (44,64%) vyrai – mažai aktyvūs, o 35 (20,83%) – labai mažai aktyvūs, bendrai tai sudaro daug nei pusę tirtų vyrų (9 lentelė). Vadinas, dauguma pacientų neturėjo aktyvaus laisvalaikio, kas gali būti kaip ŠKL rizikos veiksnys. „Sveikatinamojo“ (sureguliuoto) fizinio aktyvumo nauda ŠKL grėsmei mažinti akcentuojama iki šiol [52].

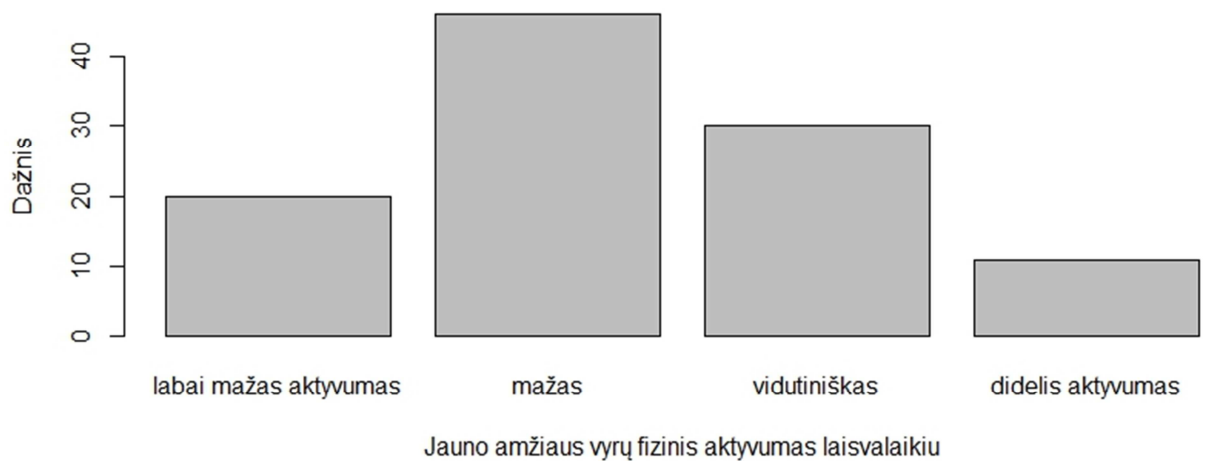
9 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal aktyvų laisvalaikio leidimą

Fizinis aktyvumas laisvalaikio	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Labai mažas	35	20,83
Mažas	75	44,64
Vidutinis	43	25,60
Didelis	15	8,93

9 ir 10 paveikslėlyje pavaizduotos histogramos atspindi jaunų ir vidutinio amžiaus vyrų pasiskirstymą pagal aktyvumo kategorijas.



9 pav. Vidutinio amžiaus vyrų fizinio aktyvumo histograma



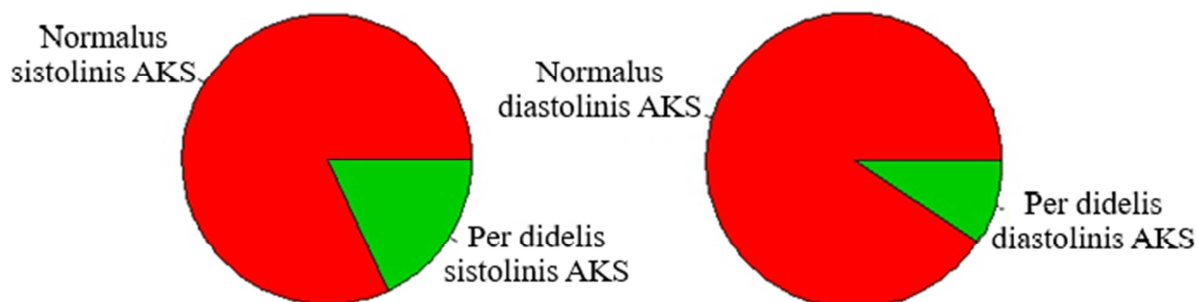
10 pav. Jauno amžiaus vyrų fizinio aktyvumo histograma

Lietuvos širdies asociacija įspėja, jog padidėjęs kraujospūdis yra ŠKL rizikos veiksnys. Teigiama, kad tai paskatina aterosklerozės vystymąsi tiems, kurie rūko, serga metaboliniu sindromu ar cukriniu diabetu, kraujyje turi per didelę lipidų koncentraciją. Todėl sistoliniam arteriniam kraujo spaudimui (AKS) viršijus 140 mmHg, o diastoliniam – 90 mmHg, būtina gydytis [53]. Tyrime dalyvavęs 141 (81,98%) pacientas turėjo normalų, o 31 (18,02%) – per didelį sistolinį AKS (11 pav., 10 lentelė). Panaši situacija buvo ir su diastoliniu AKS: 156 (90,7%) pacientai turėjo normalų, o 16 (9,3%) – per didelį AKS (11 pav., 10 lentelė).

Diastolinio AKS duomenys yra pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį (Šapiro-Vilko testas, $p > 0,05$), todėl buvo įvertintas ir jų vidurkis (12 lentelė), o kadangi sistolinio AKS skirstinys nėra normalusis (Šapiro-Vilko testas, $p < 0,05$), būdinga asimetrija, todėl šių duomenų vidurkis nėra vertinamas (11 lentelė).

10 lentelė. Tyrime dalyvavusių vyrų pasiskirstymas pagal AKS

AKS, mmHg	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Sistolinis (< 140)	141	81,98
Sistolinis (≥ 140)	31	18,02
Diastolinis (< 90)	156	90,7
Diastolinis (≥ 90)	16	9,3

**11 pav.** Tyrime dalyvavusių vyrų sistolinis (kairėje) ir diastolinis (dešinėje) AKS**11 lentelė.** Sistolinio AKS, liemens apimtys ir KMI aprašomoji statistika (Q – kvartilis)

Rodiklis	Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Sistolinis AKS, mmHg	127 (135 – 119)	0,02
Liemens apimtis, cm	89 (98 – 82)	< 0,01
KMI	24,97 (27,42 – 23,11)	< 0,01

12 lentelė. Diastolinio AKS aprašomoji statistika (SD – standartinis nuokrypis)

Rodiklis	Vidurkis ± SD	Minimumas	Maksimumas	p reikšmė
Diastolinis AKS, mmHg	76.76 ± 9.04	57	100	0,14

Pacientams, be prieš tai minėtų charakteristikų, buvo nustatyti ir lipidų apykaitos rodikliai: bendras cholesterolis (B-Ch, mmol/L), trigliceridai (TG, mmol/L), didelio tankio lipoproteinų cholesterolis (DTL-Ch, mmol/L), mažo tankio lipoproteinų cholesterolis (MTL-Ch, mmol/L), cholesterolio išnešimo geba (CEC, %). Šapiro-Vilko testu ir grafikais buvo įvertintas šių rodiklių pasiskirstymas, tačiau nei vieno iš rodiklių duomenys nebuvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį ($p < 0,05$) (p reikšmės pateiktos 13 lentelėje), buvo asimetriški.

Atsižvelgiant į prieš tai aprašytą duomenų pasiskirstymą, asimetriją, aprašomajai statistikai vertinti buvo pasirinkta mediana (13 lentelė).

13 lentelė. Lipidų apykaitos rodiklių aprašomoji statistika (Q – kvartilis)

Rodiklis	Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
B-Ch, mmol/L	5,045 (5,7 – 4,47)	0,02
DTL-Ch, mmol/L	1,21 (1,39 – 1,05)	< 0,01
MTL-Ch, mmol/L	3,19 (3,65 – 2,68)	0,01
TG, mmol/L	1,155 (1,67 – 0,880)	< 0,01
Cholesterolio išnešimo geba (%)	42,97 (60,60 – 28,78)	< 0,01

Taip pat buvo įvertinta, kiek tiriamųjų turėjo per didelius/mažus lipidų apykaitos rodiklius. Pateiktos dažnių lentelės parodo, jog didžioji dalis tyrime dalyvavusių vyrų turėjo pageidaujamą lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją (14–17 lentelės). Tačiau vis tiek net 72 (41,86%) tiriamieji turėjo per didelę B-Ch koncentraciją (14 lentelė). Kur kas mažiau tiriamųjų turėjo per didelę MTL-Ch (50 (29,07%)) ir TG (36 (20,93%)) koncentraciją (15, 16 lentelės). Ir tik 18 (10,47%) tiriamųjų turėjo per mažą DTL-Ch koncentraciją (17 lentelė).

14 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal cholesterolio koncentraciją

B-Ch, mmol/L	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Pageidaujama koncentracija, ≤ 5,2	100	58,14
Per didelė koncentracija, > 5,2	72	41,86

15 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal MTL-Ch koncentraciją

MTL-Ch, mmol/L	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Pageidaujama koncentracija, $\leq 3,5$	122	70,93
Per didelė koncentracija, $> 3,5$	50	29,07

16 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal TG koncentraciją

TG, mmol/L	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Pageidaujama koncentracija, $\leq 1,8$	136	79,07
Per didelė koncentracija, $> 1,8$	36	20,93

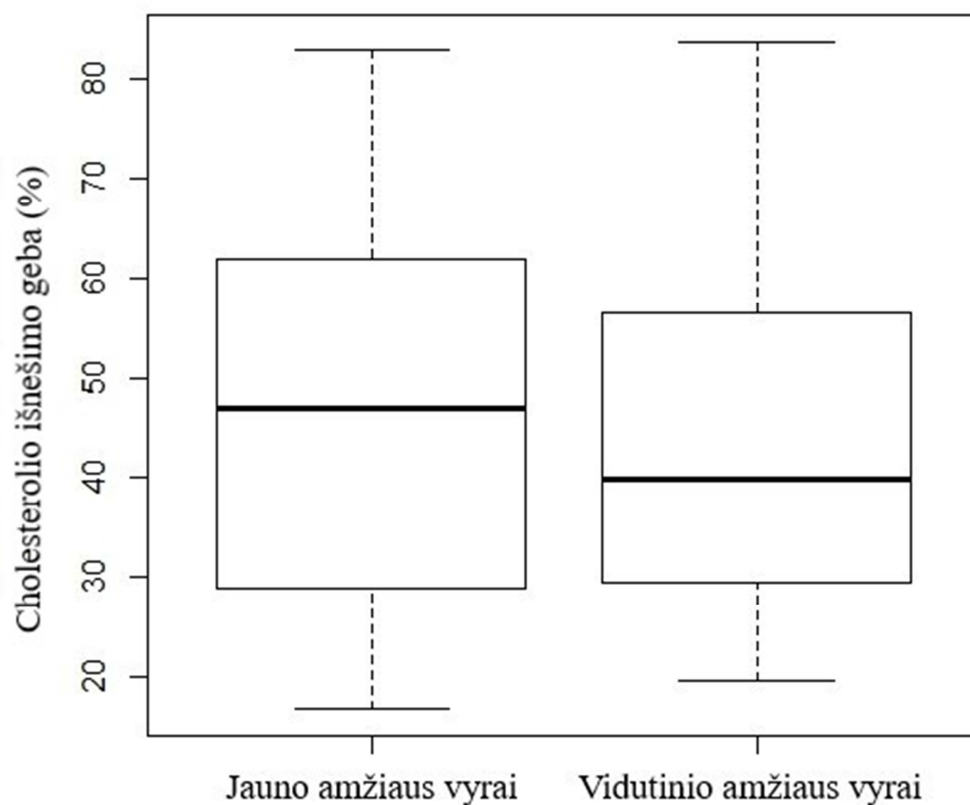
17 lentelė. Tiriamųjų pasiskirstymas pagal DTL-Ch koncentraciją

DTL-Ch, mmol/L	Vyrų skaičius (n)	Procentinė išraiška (%)
Pageidaujama koncentracija, $> 0,91$	154	89,53
Per maža koncentracija, $\leq 0,91$	18	10,47

Taigi atliekant aprašomąją statistiką buvo sudarytos dažnių lentelės, tai yra pateiktas tiriamųjų pasiskirstymas pagal amžių, lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją ir kitus ŠKL rizikos veiksnius. Be to, paaiškėjo, jog dauguma duomenų nėra pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį ($p < 0,05$), yra asimetriški, turi išskirčių, todėl apibūdinant šiuos rodiklius pateikiama mediana, o ne vidurkis. Taip pat dėl šitos priežasties kitiems statistinės analizės etapams pasirinkti neparametriniai kriterijai.

3.2. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų

Bendra visos imties cholesterolio išnešimo gebos mediana yra 42,97% (60,60% – 28,78%). Naudojant Vilkoksono kriterijų buvo siekta nustatyti, ar šio rodiklio mediana skiriasi tarp amžiaus grupių (12 pav.). Paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p = 0,57$) (18 lentelė).



12 pav. Cholesterolio išnešimo geba tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų

18 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp skirtingo amžiaus grupių (Q – kvartilis)

Rodiklis	Jauno amžiaus vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vidutinio amžiaus vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,94 (61,86 – 28,82)	39,72 (56,47 – 29,40)	0,57

3.3. Cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių sąsaja

Tiriant sąsają tarp cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių, atlikta ranginė Spirmano koreliacinė analizė, kuri atskleidė teigiamą labai silpną koreliaciją tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos ($q_s = 0,15$, $p = 0,04$) (19 lentelė). Su kitais lipidų rodikliais sąsaja nebuvo aptikta ($p > 0,05$) (19 lentelė).

19 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys (ρ_s – Spirmano koreliacijos koeficientas)

Rodiklis	Cholesterolio išnešimo geba (%)	
	ρ_s koreliacijos koeficientas	p reikšmė
B-Ch, mmol/L	0,02	0,78
TG, mmol/L	- 0,06	0,45
MTL-Ch, mmol/L	0,01	0,85
DTL-Ch, mmol/L	0,15	0,04

3.3.1. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių sąsaja tarp jauno amžiaus vyrų

Cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių duomenų analizė tarp jauno amžiaus vyrų (imties dydis (n) = 109) atskleidė, jog koreliacijos tarp kintamųjų nėra ($p > 0,05$) (20 lentelė). Prieš tai minėta, jog tiriant visą imtį, koreliacija buvo aptikta tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch, tačiau tarp jauno amžiaus vyrų ši koreliacija nepastebėta ($p = 0,78$) (19, 20 lentelės).

20 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys (n = 109, ρ_s – Spirmano koreliacijos koeficientas) tarp jauno amžiaus vyrų

Rodiklis	Cholesterolio išnešimo geba (%)	
	ρ_s koreliacijos koeficientas	p reikšmė
B-Ch, mmol/L	- 0,03	0,75
TG, mmol/L	- 0,03	0,75
MTL-Ch, mmol/L	0,02	0,80
DTL-Ch, mmol/L	0,03	0,78

3.3.2. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių sąsaja tarp vidutinio amžiaus vyrų

Taip pat buvo atlikta ir vidutinio amžiaus vyrų (imties dydis (n) = 63) cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių duomenų analizė, kuri atskleidė teigiamą silpną koreliaciją tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos ($\rho_s = 0,36$, $p = 0,004$). Apibendrinant tarp vidutinio amžiaus vyrų aptikta stipresnė koreliacija nei analizuojant visą imtį (19, 21 lentelės).

21 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys (n = 63, ρ_s – Spirmano koreliacijos koeficientas) tarp vidutinio amžiaus vyrų

Rodiklis	Cholesterolio išnešimo geba (%)	
	ρ_s koreliacijos koeficientas	p reikšmė
B-Ch, mmol/L	0,13	0,30
TG, mmol/L	- 0,05	0,71
MTL-Ch, mmol/L	0,07	0,60
DTL-Ch, mmol/L	0,36	0,004

3.4. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai

Cholesterolio išnešimo geba, esant ir nesant tam tikram rizikos veiksniai, nesiskiria. Skirtumai tarp rūkančių ir nerūkančių, rūkusių ir nerūkusių, fiziškai neaktyvių ir aktyvių, turinčių per didelį ir normalų KMI, per didelę ir normalią apimtį, per didelį ir normalų AKS yra statistiškai nereikšmingi (22–28 lentelės).

22 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkančių ir nerūkančių vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkančių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Nerūkančių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	40,23 (58,35 – 27,82)	51,52 (68,47 – 34,38)	0,12

23 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkusių ir nerūkusių praėityje vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Nerūkusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	41,05 (63,55 – 29,71)	42,30 (57,74 – 28,66)	0,72

24 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp normalų ir per didelį KMI turinčių vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių KMI < 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių KMI > 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	39,72 (59,04 – 28,97)	45,18 (62,58 – 28,60)	0,50

25 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp fiziškai neaktyvių (labai mažas ir mažas fizinis aktyvumas) ir aktyvių (vidutinis ir didelis fizinis aktyvumas) vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Fiziškai aktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Fiziškai neaktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	44,93 (61,16 – 29,81)	40,84 (61,24 – 28,55)	0,85

26 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalią ir per didelę liemens apimtį vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių liemens apimtis < 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių liemens apimtis > 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	43,35 (60,88 – 29,48)	42,25 (61,11 – 27,50)	0,83

27 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį sistolinį AKS vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių sistolinis AKS < 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių sistolinis AKS ≥ 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,50 (60,33 – 29,37)	34,38 (58,32 – 26,26)	0,20

28 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį diastolinį AKS vyrų (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių diastolinis AKS < 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių diastolinis AKS ≥ 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,09 (61,86 – 28,78)	34,16 (40,56 – 26,26)	0,09

3.4.1. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai tarp jauno amžiaus vyrų

Analizuoti jauno amžiaus (imties dydis (n) = 109) vyrų cholesterolio išnešimo gebos duomenys atskleidė, jog cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai skiriasi tarp rūkančių ir nerūkančių (p = 0,03), rūkusių ir nerūkusių anksčiau (p = 0,047) jaunų vyrų. Taigi šis rodiklis buvo didesnis tarp nerūkančių ir nerūkusių vyrų (13, 14 pav., 29, 30 lentelės). Tačiau nors statistiškai reikšmingas skirtumas nustatytas tik su šiais rizikos veiksniais, pateiktose lentelėse matyti, jog tiriamųjų, kurių sistolinis ir diastolinis AKS normalus, cholesterolio išnešimo gebos mediana yra didesnė (34, 35 lentelės). Visgi šie ir kiti neminėti skirtumai negali būti laikomi statistiškai reikšmingais (p > 0,05) (31–34 lentelės).

29 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkančių ir nerūkančių jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkančių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Nerūkančių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	42 (58,66 – 27,47)	54,32 (70,43 – 38,81)	0,03

30 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkiusių ir nerūkiusių praeityje jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkiusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Nerūkiusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	40,7 (56,28 – 27,59)	53,11 (70,37 – 31,29)	0,047

31 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp normalų ir per didelį KMI turinčių jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių KMI < 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių KMI > 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	38,17 (61,44 – 28,66)	51,83 (62,62 – 29,90)	0,22

32 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp fiziškai neaktyvių (labai mažas ir mažas fizinis aktyvumas) ir aktyvių (vidutinis ir didelis fizinis aktyvumas) jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

Rodiklis	Fiziškai aktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Fiziškai neaktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	42,59 (61,44 – 29,37)	50,25 (61,88 – 28,77)	0,88

33 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalią ir per didelę liemens apimtį jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

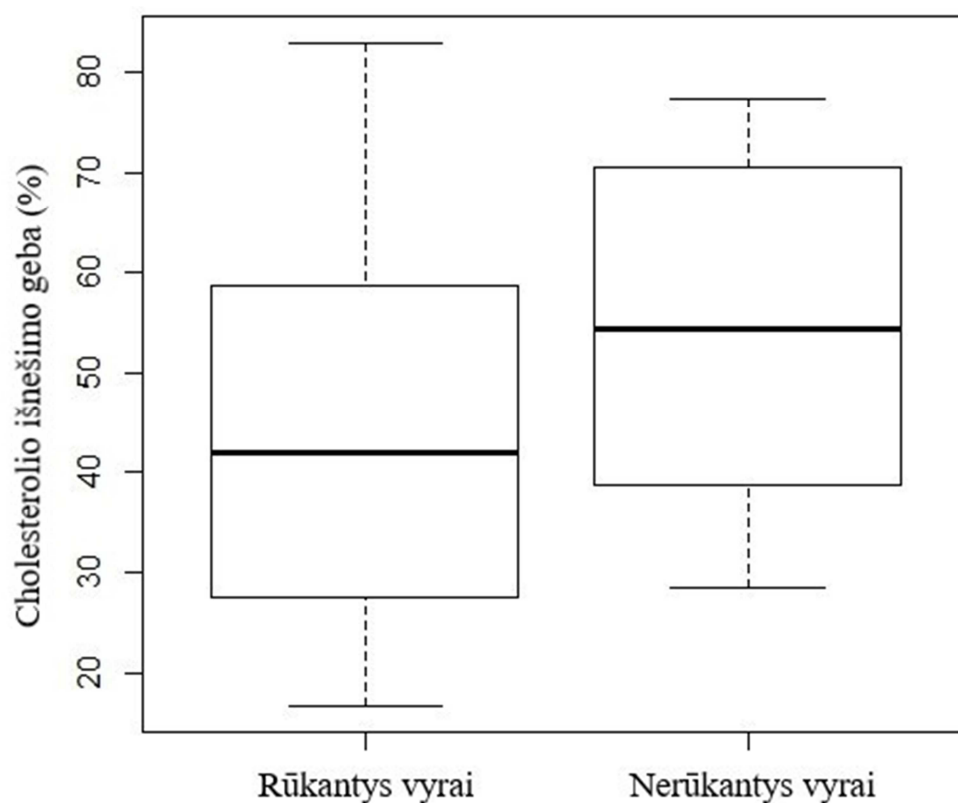
Rodiklis	Vyrų, kurių liemens apimtis < 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių liemens apimtis > 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	44,77 (61,75 – 28,9)	51,83 (63,38 – 28,53)	0,66

34 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį sistolinį AKS jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

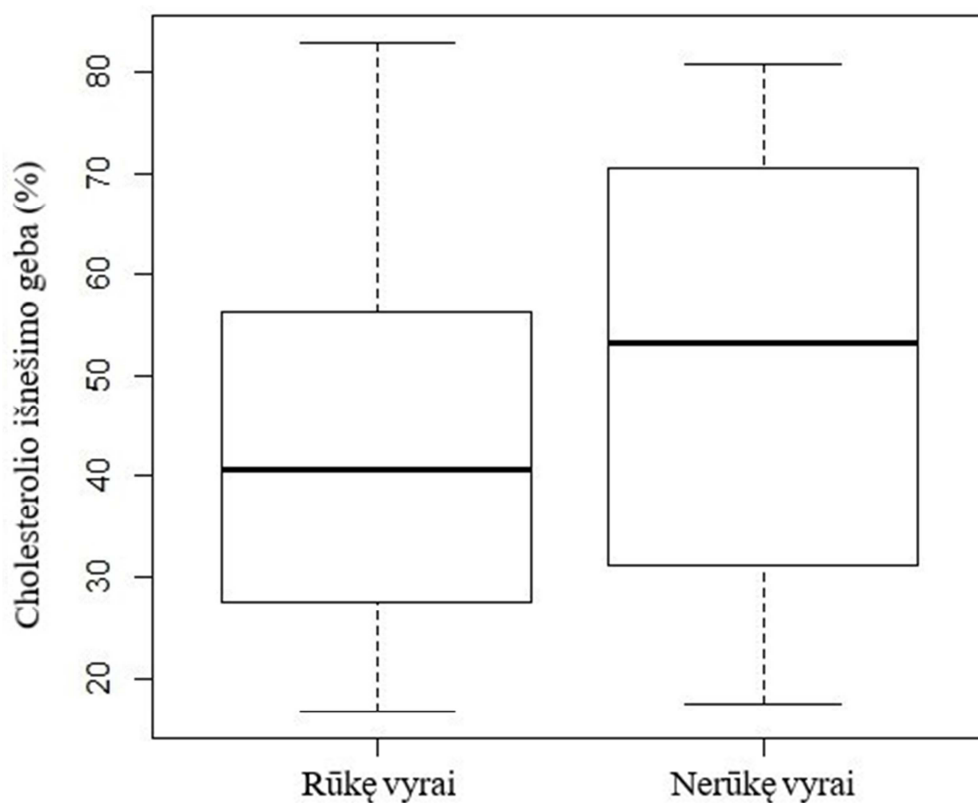
Rodiklis	Vyrų, kurių sistolinis AKS < 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių sistolinis AKS ≥ 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	48,8 (61,88 – 28,9)	33,71 (48,46 – 28,78)	0,28

35 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį diastolinį AKS jauno amžiaus vyrų (n = 109, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių diastolinis AKS < 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių diastolinis AKS ≥ 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	48,21 (61,88 – 28,9)	31,26 (32,49 – 24,03)	0,09



13 pav. Cholesterolio išnešimo geba tarp rūkančių ir nerūkančių jauno amžiaus vyrų



14 pav. Cholesterolio išnešimo geba tarp rūkusių ir nerūkusių praeityje jauno amžiaus vyrų

3.4.2. Cholesterolio išnešimo geba ir aterosklerozės rizikos veiksniai tarp vidutinio amžiaus vyrų

Cholesterolio išnešimo gebos duomenys taip pat buvo palyginti tarp vidutinio amžiaus (imties dydis (n) = 63) vyrų grupių, tai yra turinčių ir neturinčių rizikos veiksnių. Atlikus statistinę analizę paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai didesnė tik tarp vidutinio amžiaus vyrų, kurių sistolinis AKS yra normalus ($p = 0,04$) (15 pav, 41 lentelė). Tačiau pateiktose lentelėse matyti, jog tiriamųjų: nerūkusių, fiziškai aktyvių, turinčių normalią liemens apimtį, normalų diastolinį AKS, cholesterolio išnešimo gebos mediana yra didesnė (37, 39, 40, 42 lentelės), nors šie ir kiti neminti skirtumai negali būti laikomi statistiškai reikšmingais ($p > 0,05$) (36–40, 42 lentelės).

36 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkančių ir nerūkančių vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkančių vyrų Mediana ($Q_3 - Q_1$)	Nerūkančių vyrų Mediana ($Q_3 - Q_1$)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	38,37 (58,79 – 33,91)	39,63 (56,47 – 28,65)	0,85

37 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp rūkusių ir nerūkusių praeityje vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Rūkusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Nerūkusių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	36,34 (47,93 – 27,5)	45,88 (65,64 – 32,99)	0,13

38 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp normalų ir per didelį KMI turinčių vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių KMI < 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių KMI > 25, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	41,53 (53,68 – 33,91)	39,63 (62,32 – 27,5)	0,83

39 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp fiziškai neaktyvių (labai mažas ir mažas fizinis aktyvumas) ir aktyvių (vidutinis ir didelis fizinis aktyvumas) vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Fiziškai aktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Fiziškai neaktyvių vyrų Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,5 (60,33 – 36,34)	36,88 (54,97 – 27,5)	0,34

40 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalią ir per didelę liemens apimtį vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

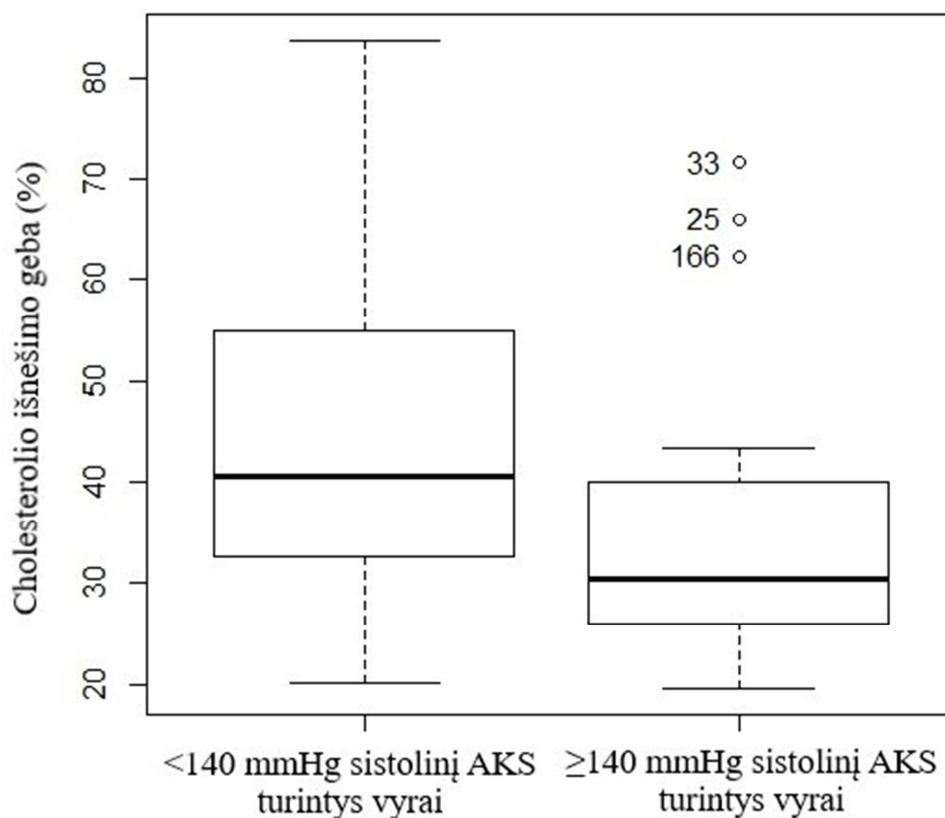
Rodiklis	Vyrų, kurių liemens apimtis < 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių liemens apimtis > 94 cm, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	43,35 (55,64 – 34,38)	37,71 (57,3 – 27,50)	0,23

41 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį sistolinį AKS vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių sistolinis AKS < 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių sistolinis AKS ≥ 140 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	40,64 (54,91 – 32,64)	30,44 (39,23 – 26,22)	0,04

42 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp turinčių normalų ir per didelį diastolinį AKS vidutinio amžiaus vyrų (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių diastolinis AKS < 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių diastolinis AKS ≥ 90 mmHg, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	42,89 (59,57 – 29,03)	36,74 (43,35 – 33,94)	0,37



15 pav. Cholesterolio išnešimo geba tarp turinčių normalų ir per didelį sistolinį AKS vidutinio amžiaus vyrų

3.5. Cholesterolio išnešimo gebos ir aterosklerozės rizikos veiksnių sąsaja

Atlikta statistinė analizė atskleidė neigiamą silpną koreliaciją tarp cholesterolio išnešimo gebos ir sistolinio ($\rho_s = -0,35$, $p = 0,01$) bei diastolinio ($\rho_s = -0,33$, $p = 0,01$) AKS (43 lentelė). Ši koreliacija nustatyta tik tarp vidutinio amžiaus vyrų (imties dydis (n) = 63). Taip pat buvo nustatytas ryšys tarp cholesterolio išnešimo gebos ir surūkytų cigarečių per dieną. Koreliacija buvo aptikta analizuojant bendrą imtį ($\rho_s = -0,17$, $p = 0,03$) (44 lentelė).

43 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos ir AKS ryšys tarp vidutinio amžiaus vyrų ($n = 63$, ρ_s – Spirmano koreliacijos koeficientas)

Rodiklis	Cholesterolio išnešimo geba (%)	
	ρ_s koreliacijos koeficientas	p reikšmė
Sistolinis AKS, mmHg	- 0,35	0,01
Diastolinis AKS, mmHg	- 0,33	0,01

44 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos ir surūkytų cigarečių per dieną ryšys tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų ($n = 172$, ρ_s – Spirmano koreliacijos koeficientas)

Rodiklis	Cholesterolio išnešimo geba (%)	
	ρ_s koreliacijos koeficientas	p reikšmė
Surūkytų cigarečių skaičius per dieną, vnt	- 0,17	0,03

3.6. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių pageidaujama ir per didelę/mažą lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją

Duomenų statistinė analizė neatskleidė statistiškai reikšmingų skirtumų tarp turinčių pageidaujama ir per didelę/mažą lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją (45–48 lentelės). Pateiktose lentelėse matyti, jog tiriamųjų, kurių B-Ch, TG, MTL-Ch koncentracija atitinka pamatines biologines vertes, cholesterolio išnešimo gebos mediana yra mažesnė nei tų, kurie turi per dideles minėtų rodiklių koncentracijas (45–47 lentelės). Taip pat matyti, jog esant pageidaujamai DTL-Ch koncentracijai cholesterolio išnešimo gebos mediana yra didesnė (48 lentelė). Tačiau aptarti skirtumai nėra statistiškai reikšmingi ($p > 0,05$) (45–48 lentelės).

45 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių normalią ir per didelę B-Ch koncentraciją (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių B-Ch koncentracija $\leq 5,2$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių B-Ch koncentracija $> 5,2$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	38,17 (58,02 – 27,50)	46,94 (61,86 – 33,94)	0,23

46 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių normalią ir per didelę MTL-Ch koncentraciją (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių MTL-Ch koncentracija $\leq 3,5$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių MTL-Ch koncentracija $> 3,5$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	37,98 (58,13 – 28,08)	51,04 (61,75 – 35,05)	0,12

47 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių normalią ir per didelę TG koncentraciją (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių TG koncentracija $\leq 1,8$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių TG koncentracija $> 1,8$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	41,52 (58,85 – 28,78)	46,89 (63,86 – 29,43)	0,54

48 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių normalią ir per mažą DTL-Ch koncentraciją (Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurių DTL-Ch koncentracija $> 0,92$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurių DTL-Ch koncentracija $\leq 0,91$ mmol/L, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	45,41 (61,16 – 29,43)	34,28 (55,55 – 27,11)	0,26

3.7. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių daugiau nei 3 ir mažiau nei 4 rizikos veiksnius

Atsižvelgiant į rizikos veiksnius (rūkymą, rūkymą anksčiau, fizinį aktyvumą, AKS, liemens apimtį, KMI), sudarytos dvi tiriamųjų grupės: pacientai, turintys 4 ir daugiau rizikos veiksnių ir pacientai, turintys 3 ir mažiau rizikos veiksnių. Palyginus duomenis paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba tarp grupių statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p > 0,05$), nors vyrų, kurie turi nedaug rizikos veiksnių, cholesterolio išnešimo gebos mediana ir yra didesnė (49 lentelė). Tačiau palyginus tas pačias grupes tarp skirtingo amžiaus vyrų, tai yra tarp vidutinio ($n = 63$) ir jauno amžiaus ($n = 109$), buvo aptiktas statistiškai reikšmingas skirtumas. Paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba yra didesnė tų vidutinio amžiaus vyrų, kurie neturi arba turi nedaug aterosklerozės rizikos veiksnių ($p = 0,01$) (16 pav., 51 lentelė).

49 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vyrų, turinčių daug ir mažai rizikos veiksnių (Q – kvartilis)

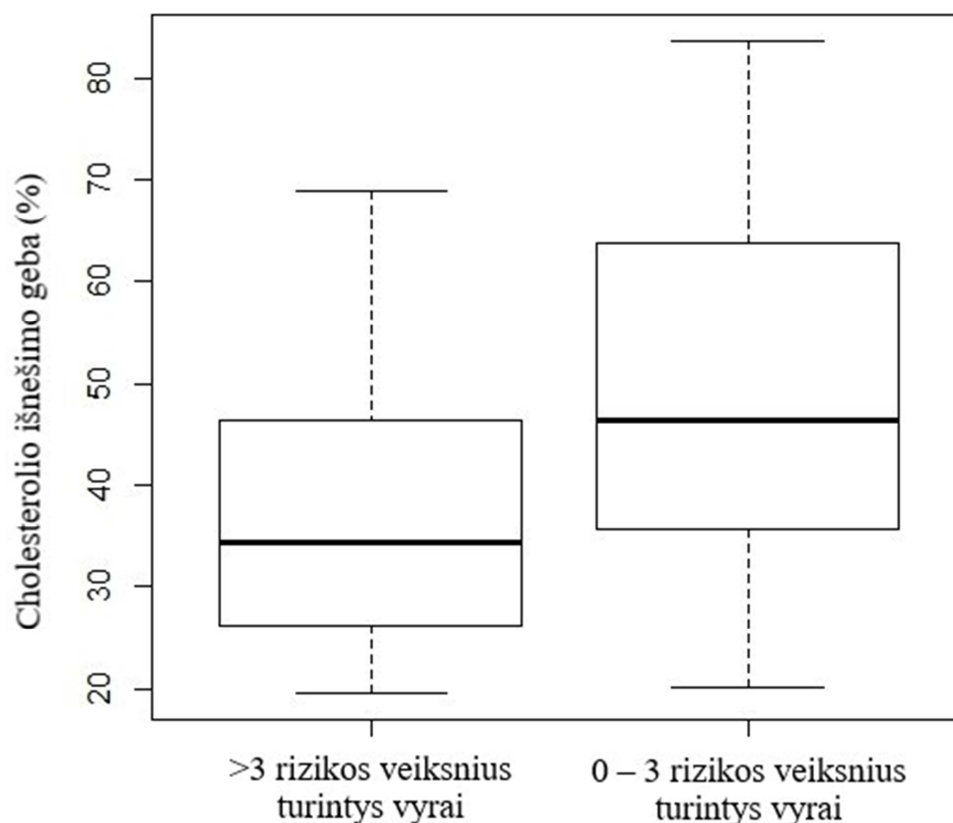
Rodiklis	Vyrų, kurie neturi arba turi 3 ir mažiau rizikos veiksnių, Mediana ($Q_3 - Q_1$)	Vyrų, kurie turi 4 ir daugiau rizikos veiksnių, Mediana ($Q_3 - Q_1$)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,94 (60,88 – 29,48)	35,51 (50,56 – 27,50)	0,12

50 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp jauno amžiaus vyrų, turinčių daug ir mažai rizikos veiksnių ($n = 109$, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurie neturi arba turi 3 ir mažiau rizikos veiksnių, Mediana ($Q_3 - Q_1$)	Vyrų, kurie turi 4 ir daugiau rizikos veiksnių, Mediana ($Q_3 - Q_1$)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	47,87 (59,04 – 28,74)	42,86 (67,56 – 31,87)	0,49

51 lentelė. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp vidutinio amžiaus vyrų, turinčių daug ir mažai rizikos veiksnių (n = 63, Q – kvartilis)

Rodiklis	Vyrų, kurie neturi arba turi 3 ir mažiau rizikos veiksnių, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	Vyrų, kurie turi 4 ir daugiau rizikos veiksnių, Mediana (Q ₃ – Q ₁)	p reikšmė
Cholesterolio išnešimo geba (%)	46,56 (63,74 – 35,81)	34,38 (46,48 – 26,15)	0,01



16 pav. Cholesterolio išnešimo geba tarp vidutinio amžiaus vyrų (n = 63), turinčių daug ir mažai rizikos veiksnių

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Širdies ir kraujagyslių ligos (ŠKL) yra pagrindinė mirties priežastis pasaulyje. Šiuo metu visuotinai pripažįstama, jog mažėjanti MTL-Ch koncentracija serume mažina ŠKL riziką, tačiau DTL-Ch vaidmuo yra prieštaringas [54]. Ankstesnių epidemiologinių tyrimų metu buvo pastebėtas atvirkštinis ryšys tarp DTL-Ch ir ŠKL rizikos [55], tačiau naujesni tyrimai parodė, jog aktyviai didinama DTL-Ch koncentracija nesumažina ŠKL grėsmės [35].

Įvairių tyrimų metu buvo nustatyta ne viena DTL antiaterogeninė savybė, tačiau svarbiausia – gebėjimas skatinti cholesterolio išnešimą iš makrofagų [54]. Cholesterolio išnešimo geba – tai matas, kuriuo įvertinamas DTL gebėjimas skatinti cholesterolio pašalinimą iš makrofagų, perpildytų lipidais, tai yra šiuo rodikliu įvertinamas pirmas grįžtamojo cholesterolio transporto etapas [6]. In vitro tyrimų metu buvo nustatytas atvirkštinis ryšys tarp DTL cholesterolio išnešimo gebos iš makrofagų ir ŠKL rizikos, nepriklausomai nuo DTL-Ch ir apo AI koncentracijos [4,6]. Tokie tyrimai parodo, jog siekiant įvertinti ŠKL riziką daug geresnis tyrimų objektas yra DTL funkcionalumas, o ne DTL-Ch koncentracija.

Taigi įvertinus cholesterolio išnešimo gebos svarbą nustatant ŠKL grėsmę, buvo suformuluoti šio darbo uždaviniai: rodiklio palyginimas tarp skirtingo amžiaus grupių, tarp turinčių tam tikrą rizikos veiksnį ir neturinčių, tarp turinčių pageidaujama ir per didelę lipidų apykaitos rodiklių koncentraciją, tarp turinčių daug ir mažai rizikos veiksnių; sąsajos ieškojimas tarp cholesterolio išnešimo gebos ir lipidų apykaitos rodiklių bei rizikos veiksnių.

4.1. Cholesterolio išnešimo gebos palyginimas tarp skirtingo amžiaus vyrų

Senėjimas yra susijęs su padidėjusia ŠKL rizika bei sumažėjusia DTL-Ch koncentracija [56]. 2017 m. publikuotame Andrea L. Koekemoer ir kitų tyrėjų straipsnyje aprašomas tyrimas, kurio metu buvo naudotasi tiesinės vienalypės ir daugialypės regresijos modeliais, atskleidusiais ryšį tarp cholesterolio išnešimo gebos ir klinikinių parametru bei kraujo serumo analičių. Tiesinės daugialypės regresijos modeliu nustatyta, jog 7 parametrai ar analitės nepriklausomai susiję su cholesterolio išnešimo geba ($p < 0,05$). Vienas iš parametru – amžius (tiriamieji 18–61 m.), kuris neigiamai susijęs su cholesterolio išnešimo geba (standartizuotas koeficientas (β): – 0,0104 (pasikliautinasis intervalas (PI): nuo – 0,0163 iki – 0,0044, $p = 6,5 \times 10^{-4}$), tai yra didėjant amžiui cholesterolio išnešimo geba mažėja [57]. Kiti tyrimai tik patvirtina, jog cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai skiriasi tarp sveikų vyresnio ir jaunesnio amžiaus asmenų [54]. Vieno tokio tyrimo metu buvo lyginami 20–30 m. ir 65–70 m. asmenys. Tyrėjams pavyko nustatyti, jog vyresnių asmenų cholesterolio išnešimo geba yra mažesnė, lyginant su jaunesnio amžiaus žmonėmis ($41,7 \pm 1,4\%$ ir $49,0 \pm 2,2\%$, $p = 0,01$) [58]. Dar kitų tyrimų metu buvo nustatyta teigiama koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir fosfatidilserino, kurio yra gausu mažose, subrendusiose DTL₃ dalelėse [25,59,60]. O tai tik patvirtina, jog tokios DTL dalelės yra efektyviausi cholesterolio išnešimo tarpininkai [61]. To paties apie dideles DTL₂ daleles negalime teigti, nustatyta, jog jų paviršiniame monosluoksnyje yra gausu sfigomiellino [54], kurio didesnė koncentracija buvo aptikta vyresnio amžiaus tiriamiesiems ($p < 0,05$) [62]. Taigi aptartų tyrimų duomenys parodo, jog vyresnio amžiaus tiriamieji turi reikšmingai mažesnę cholesterolio išnešimo gebą, kuri galimai priklauso nuo DTL frakcijų. Minėti literatūros

duomenys leido tikėtis, jog ir šiame darbe bus nustatytas reikšmingas skirtumas, tačiau cholesterolio išnešimo geba tarp 109 jauno (25–39 m.) ir 63 vidutinio amžiaus (40–55 m.) vyrų statistiškai reikšmingai nesiskyrė (46,94% (interkvartilinis plotis (IQR): 61,86% – 28,82%) ir 39,72% (IQR: 56,47% – 29,40%), $p = 0,57$). Tam įtakos galėjo turėti tai, jog visi tyrime dalyvavę vyrai buvo pakankamai jauni, o viename iš atvejų minimi reikšmingi skirtumai nustatyti tarp jaunų ir vyresnių (> 65 m.) asmenų, o ne vidutinio amžiaus. Tačiau nereikia pamiršti, jog yra ir tyrimų, patvirtinančių neigiamą sąsają tarp cholesterolio išnešimo gebos ir amžiaus, kai tiriamieji patenka į jauno ir vidutinio amžiaus kategorijas (18–61 m.).

4.2. Cholesterolio išnešimo geba ir kiti lipidų apykaitos rodikliai

Tiriamiesiems buvo nustatyti lipidų apykaitos rodikliai: B-Ch, MTL-Ch, TG, DTL-Ch koncentracija serume. Padidėjęs MTL-Ch, TG ir sumažėjęs DTL-Ch kiekis yra aterosklerozės rizikos veiksniai [27]. Šių rizikos veiksnių įtaka buvo vertinama anksčiau minėtame tyrime. Tiesinės daugialypės regresijos modeliu nustatyta, jog cholesterolio išnešimo geba yra teigiamai susijusi su TG ir DTL-Ch koncentracija serume ($p < 0,05$) [57]. Tačiau kitų tyrimų metu koreliacija aptinkama tik tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos [54]. Viename iš tyrimų nustatyta vidutinio stiprumo teigiama koreliacija ($r = 0,40$, $p < 0,0001$) [6]. Visgi tai nebūtinai reiškia, jog didėjanti DTL-Ch koncentracija padidins ir cholesterolio išnešimo gebą [63]. Taigi prieš tai minėtas mažas DTL-Ch kiekis vis rečiau laikomas rizikos veiksniu, kadangi naujausi tyrimai rodo, jog didėjantis cholesterolio išnešimas iš makrofagų, esančių vidiniame arterijų sienelių sluoksnyje, gali suteikti apsaugą prieš aterosklerozės formavimąsi, nepriklausomai nuo DTL-Ch koncentracijos plazmoje [5]. Analizuojant šio darbo duomenis ($n = 172$), nustatyta teigiama labai silpna koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos ($Q_s = 0,15$, $p = 0,04$). O statistiškai apdorojant vidutinio amžiaus vyrų ($n = 63$) duomenis, aptikta stipresnė koreliacija nei analizuojant visą imtį ($Q_s = 0,36$, $p = 0,004$). Kiti lipidų apykaitos rodikliai neturėjo sąsajos su cholesterolio išnešimo geba ($p > 0,05$). Taigi reikšmingus ryšius aptikus tik su DTL-Ch, tiriamųjų duomenys buvo sugrupuoti į dvi grupes pagal tai, ar tam tikro rodiklio koncentracija yra pageidaujama ar per didelė/maža, ir po to buvo palyginta, ar šių grupių cholesterolio išnešimo gebos duomenys skiriasi. Pavyzdžiui, cholesterolio išnešimo geba palyginta tarp tiriamųjų, kurių MTL-Ch koncentracija yra per didelė ir pageidaujama. Tačiau ir šiuo atveju reikšmingi skirtumai nenustatyti ($p > 0,05$).

4.3. Cholesterolio išnešimo geba ir ŠKL rizikos veiksniai

Tiriamiesiems buvo apskaičiuotas KMI, pamatuotas sistolinis ir diastolinis AKS, liemens apimtis. Taip pat pacientai buvo apklausti dėl fizinės veiklos, rūkymo dabar ir anksčiau. Visi šie rizikos veiksniai, išskyrus fizinį aktyvumą, buvo įvertinti jau ne kartą minėtame tyrime. Tiesinės vienalypės regresijos modeliu nustatytas teigiamas ryšys tarp sistolinio, diastolinio AKS ir cholesterolio išnešimo gebos. O neigiamas ryšys aptiktas tik su KMI ir liemens apimtimi, vadinasi, didėjant liemens apimčiai ir KMI, cholesterolio išnešimo geba turėtų mažėti [57]. Literatūroje pateikiama, jog padidėjęs KMI yra susijęs ir su sumažėjusia DTL-Ch koncentracija [54]. Taip pat kai kurie literatūros šaltiniai pateikia, jog nutukimas yra siejamas su sumažėjusia ABCA1 ir ABCG1 genų, kurie dalyvauja cholesterolio apykaitoje, ekspresija. Tokia genų raiška gali paaiškinti sumažėjusią cholesterolio išnešimo gebą [64]. D. Autran su kolegomis nustatė, kad nutukusių moterų cholesterolio išnešimo geba yra mažesnė, lyginant su kontroline moterų grupe ($26,75 \pm 3,1\%$ ir $30,81 \pm 4,2\%$, $p = 0,004$) [65]. Tačiau N. Attia ir kitų atliktas tyrimas atskleidė neįprastus cholesterolio išnešimo gebos pokyčius tarp nutukusių moterų, pavalgius riebaus maisto. Cholesterolio išnešimo geba buvo matuojama iškart pavalgius, po 4 ir 10 valandų. Nustatyta, jog ABCA1 keliu išnešamas cholesterolio kiekis yra didesnis po 4 ($p < 0,01$) ir daug didesnis po 10 valandų ($p < 0,0005$), lyginant su pradine cholesterolio išnešimo geba. Atkreipus dėmesį į kontrolinės grupės rezultatus, pastebima, jog nenutukusioms moterims minėti pokyčiai nėra stebimi, o cholesterolio išnešimo gebos skirtumas, praėjus 10 valandų po riebaus valgio, tarp nutukusių ir nenutukusių moterų, yra didelis ($21,9 \pm 7,7\%$ ir $11,4 \pm 6,2\%$, $p = 0,004$) [66]. Visgi statistiškai analizuojant jauno ir vidutinio amžiaus vyrų duomenis nebuvo nustatyti jokie reikšmingi skirtumai: nei lyginant pagal KMI reikšmę, kai $KMI < 25$ ir kai $KMI > 25$, nei pagal liemens apimtį, kai ji < 104 cm ir kai ji > 104 cm ($p > 0,05$). Lygintos ne tik bendros imties ($n = 172$) cholesterolio išnešimo gebos, bet ir atskirų amžiaus grupių ($n = 109$, $n = 63$). Tačiau nei vienu atveju rezultatai statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

Kaip jau buvo minėta, tiesinės vienalypės regresijos modeliu nustatytas teigiamas ryšys tarp sistolinio, diastolinio AKS ir cholesterolio išnešimo gebos [57]. Analizuojant šio darbo duomenis, cholesterolio išnešimo geba pagal AKS buvo palyginta ne tik tarp visų tiriamųjų, bet ir atskirai tarp jauno bei vidutinio amžiaus vyrų. Paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba yra statistiškai reikšmingai didesnė tų vidutinio amžiaus vyrų ($n = 63$), kurių sistolinis AKS yra normalus, lyginant su tais, kurių sistolinis AKS yra per didelis (> 140 mmHg) ($40,64\%$ (IQR: $54,91\% - 32,64\%$) ir $30,44\%$ (IQR: $39,23\% - 26,22\%$), $p=0,04$). Taip pat buvo nustatyta silpna neigiama koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir sistolinio ($Q_s = -0,35$, $p = 0,01$) bei diastolinio ($Q_s = -0,33$, $p = 0,01$) AKS ir nors ši koreliacija yra silpna ir aptikta tik vidutinio

amžiaus vyrams ($n = 63$), tačiau statistiškai reikšminga. Per didelį AKS priskyrus prie rizikos veiksnių, tokie šio darbo rezultatai yra logiški, nors ir prieštaringi prieš tai aptarto tyrimo rezultatus, kur buvo nustatytas teigiamas ryšys tarp AKS ir cholesterolio išnešimo gebos.

Rūkymas dabar ir anksčiau – paskutiniai rizikos veiksniai, kurie analizuoti ne tik šio darbo metu, bet ir A. L. Koekemoer bei kitų kolegų tyrime. Tačiau nei tiesinės vienalypės, nei tiesinės daugialypės regresijos atveju nenustatyti statistiškai reikšmingi ryšiai tarp cholesterolio išnešimo gebos ir minėtų rizikos veiksnių ($p > 0,05$) [57]. O analizuojant šio darbo duomenis paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai skiriasi tarp rūkančių ir nerūkančių (42% (58,66% – 27,47%) ir 54,32% (70,43% – 38,81%), $p = 0,03$) bei tarp rūkusių ir nerūkusių anksčiau (40,7% (56,28% – 27,59%) ir 53,11% (70,37% – 31,29%), $p = 0,047$) jaunų vyrų. Taip pat nustatyta neigiama koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir surūkytų cigarečių skaičiaus per dieną, kai buvo analizuojama bendra imtis ($\rho_s = -0,17$, $p = 0,03$). Taigi analizė atskleidė, jog šių rizikos veiksnių neturinčių jaunų vyrų cholesterolio išnešimo geba yra didesnė. Tai, kad rūkymas turi įtakos patvirtina ir kiti tyrimai. Išsiaiškinta, jog nerūkančių ABCA1 baltymo ekspresija yra didesnė nei rūkančių ($p = 0,033$). Taip pat buvo nustatyta, kad pacientams, sergantiems išemine širdies liga, nutraukus rūkymą, cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai padidėja ($8,14 \pm 1,61\%$ ir $11,47 \pm 3,61\%$, $p = 0,004$) [43].

Fizinis aktyvumas – veiksnys, kuris taip pat buvo įtrauktas į tyrimą, kadangi literatūroje pateikiama, jog sportininkų cholesterolio išnešimo geba yra didesnė, lyginant su kontroliniais asmenimis [54]. Vis dėlto šiame darbe nepavyko nustatyti statistiškai reikšmingo cholesterolio išnešimo gebos skirtumo tarp fiziškai aktyvių ir mažai aktyvių vyrų ($p > 0,05$).

Galiausiai tiriamieji buvo suskirstyti į 2 grupes: turinčius 0–3 ir 4–6 rizikos veiksnis. Atliekant analizę pavyko nustatyti statistiškai reikšmingai didesnę cholesterolio išnešimo gebą tarp tų vidutinio amžiaus vyrų, kurie turėjo ne daugiau kaip 3 rizikos veiksnis (46,56% (63,74% – 35,81%) ir 34,38% (46,48% – 26,15%), $p = 0,01$). Tai leidžia daryti išvadą, jog vis dėlto ir amžius turi įtakos cholesterolio išnešimo gebai, kadangi analizuojant jauno amžiaus vyrų duomenis nebuvo nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas (47,87% (59,04% – 28,74%) ir 42,86% (67,56% – 31,87%), $p = 0,49$).

4.4. Apibendrinimas

Tai, jog didesnis cholesterolio išnešimas iš makrofagų gali suteikti apsaugą nuo aterosklerozės formavimosi, nepriklausomai nuo didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracijos plazmoje, rodo, kad ši DTL funkcija gali būti tinkamas žymuo ŠKL rizikai prognozuoti [4–6]. Tą patvirtina daugelis tyrimų, kurie buvo minėti literatūros apžvalgoje ir rezultatų aptarime bei šiame darbe gauti statistiškai reikšmingi rezultatai. Ir nors nepavyko

nustatyti statistiškai reikšmingo cholesterolio išnešimo gebos skirtumo tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų, tačiau išsiaiškinta, jog vidutinio amžiaus vyrų, turinčių daugiau nei 3 rizikos veiksnius, cholesterolio išnešimo geba yra mažesnė. Taip pat buvo nustatyti statistiškai reikšmingi cholesterolio išnešimo gebos skirtumai tarp turinčių tam tikrą rizikos veiksnį ir tarp jo neturinčių, tačiau tokie rezultatai gauti ne su visais ŠKL rizikos veiksniais. Analizuojant kai kuriuos veiksnius buvo matomos tik tendencijos, kurios, padidinus tiriamųjų imtį, galimai galėtų būti statistiškai reikšmingos.

Be lyginamosios analizės buvo atliekamas ir sąsajos ieškojimas tarp cholesterolio išnešimo gebos ir kitų rodiklių. Atskleista silpna koreliacija tarp DTL-Ch koncentracijos ir cholesterolio išnešimo gebos.

IŠVADOS

1. Tyrime dalyvavusių jauno (25–40 m.) ir vidutinio (41–55 m.) amžiaus vyrų cholesterolio išnešimo gebos mediana – 42,97%. Cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai nesiskiria tarp skirtingo amžiaus grupių (46,94% ir 39,72%, $p = 0,57$).
2. Cholesterolio išnešimo geba yra statistiškai reikšmingai susijusi su DTL-Ch koncentracija ($q_s = 0,15$, $p = 0,04$). Tačiau statistiškai reikšminga koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir B-Ch, TG bei MTL-Ch koncentracijos nebuvo nustatyta, todėl gauti rezultatai parodo, jog cholesterolio išnešimo gebai įtakos turi tik DTL-Ch koncentracija.
3. Cholesterolio išnešimo geba yra statistiškai reikšmingai mažesnė tų vidutinio amžiaus vyrų, kurių sistolinis AKS yra per didelis (30,44% ir 40,64%, $p = 0,04$) ir kurie turėjo daugiau nei 3 ŠKL rizikos veiksnius (34,38% ir 46,56%, $p = 0,01$). O jauno amžiaus vyrų grupėje cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai skiriasi tarp rūkančių ir nerūkančių (42% ir 54,32%, $p = 0,03$).

SANTRAUKA

Įvadas. Cholesterolio išnešimo geba – tai rodiklis, kuriuo įvertinamas didelio tankio lipoproteinų gebėjimas skatinti cholesterolio pašalinimą iš lipidais perpildytų makrofagų. Naujausi tyrimai patvirtina, jog didesnis cholesterolio pašalinimas iš makrofagų gali suteikti apsaugą nuo aterosklerozės formavimosi, nepriklausomai nuo didelio tankio lipoproteinų cholesterolio (DTL-Ch) koncentracijos plazmoje. O tai reiškia, jog cholesterolio išnešimo geba gali būti tinkamas žymuo širdies ir kraujagyslių ligų rizikai prognozuoti.

Darbo tikslas: Nustatyti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą jauniems ir vidutinio amžiaus vyrams bei įvertinti aterosklerozės rizikos veiksnių įtaką šiam rodikliui.

Darbo uždaviniai: nustatyti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą ir ją palyginti tarp jauno (25–39 m.) ir vidutinio amžiaus (40–55 m.) vyrų; įvertinti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebos ir kitų lipidų apykaitos rodiklių sąsają; palyginti didelio tankio lipoproteinų cholesterolio išnešimo gebą su kitais aterosklerozės rizikos rodikliais.

Metodai. Į tyrimą buvo įtraukti sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys, jauno ir vidutinio amžiaus 172 vyrai. In vitro cholesterolio išnešimo gebos tyrimas buvo atliktas naudojant ląstelių kultūrų metodą: fluorescencine žyme pažymėtas cholesterolis inkorporuotas į J774a.1 pelių makrofagus, tada tokios ląstelės inkubuotos su paruoštais tiriamųjų serumo cholesterolio akceptoriais, o tyrimo pabaigoje išmatuotas terpės su serumu bei lizato fluorescencijos intensyvumas ir pagal tai apskaičiuotas procentinis cholesterolio išnešimas.

Rezultatai. Cholesterolio išnešimo geba tarp jauno ir vidutinio amžiaus vyrų statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Nustatyta teigiama labai silpna koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos ($q_s = 0,15$; $p = 0,04$). Vidutinio amžiaus vyrų grupėje aptikta stipresnė koreliacija nei analizuojant visą imtį ($q_s = 0,36$, $p = 0,004$). Kiti lipidų apykaitos rodikliai neturėjo sąsajos su cholesterolio išnešimo geba. Taip pat buvo bandyta nustatyti statistiškai reikšmingus cholesterolio išnešimo gebos skirtumus tarp tiriamųjų, kurių lipidų apykaitos rodiklių koncentracijos yra pageidaujamos ir per didelės ar per mažos, tačiau nesėkmingai. Statistiškai reikšmingi skirtumai nebuvo gauti nei lyginant pagal kūno masės indeksą, nei pagal liemens apimtį, nei pagal fizinio aktyvumo lygį. Tačiau paaiškėjo, jog cholesterolio išnešimo geba yra statistiškai reikšmingai didesnė tų vidutinio amžiaus vyrų ($n = 63$), kurių sistolinis arterinis kraujo spaudimas (AKS) yra normalus (40,64% ir 30,44%; $p = 0,04$). Be to, nustatyta silpna neigiama koreliacija tarp cholesterolio išnešimo gebos ir sistolinio ($q_s = -0,35$) bei diastolinio ($q_s = -0,33$) AKS ($p = 0,01$). Taip pat išsiaiškinta, jog cholesterolio išnešimo geba statistiškai reikšmingai skiriasi tarp rūkančių ir nerūkančių (42% ir 54,32%, $p = 0,03$) bei tarp rūkusių ir nerūkusių anksčiau (40,7% ir 53,11%, $p = 0,047$) jaunų vyrų.

Galiausiai buvo bandyta įvertinti cholesterolio išnešimo gebą tarp vyrų, kurie turi 0–3 ir 4–6 rizikos veiksnius. Pavyko nustatyti statistiškai reikšmingai didesnę cholesterolio išnešimo gebą tarp tų vidutinio amžiaus vyrų, kurie turėjo ne daugiau kaip 3 rizikos veiksnius (46,56% ir 34,38%, $p = 0,01$).

Išvados. Rezultatai atskleidė silpną teigiamą sąsają tarp cholesterolio išnešimo gebos ir DTL-Ch koncentracijos bei parodė, jog kai kurie rizikos veiksniai (per didelis AKS, rūkymas, rūkymas anksčiau) bei didesnis šių rizikos veiksnių skaičius yra susiję su mažesne cholesterolio išnešimo geba.

Raktiniai žodžiai. Aterosklerozė, cholesterolio išnešimo geba, didelio tankio lipoproteinai

SUMMARY

High Density Lipoprotein Cholesterol Efflux Capacity in Young and Middle-aged Men

Introduction. Cholesterol efflux capacity is a measure of the ability of high density lipoproteins to promote cholesterol removal from lipid-laden macrophages. Latest studies prove that the higher cholesterol removal from macrophages could provide protection from formation of atherosclerosis independently from high density lipoprotein cholesterol (HDL-Ch) concentration in plasma, providing that cholesterol efflux capacity could be a suitable marker for cardiovascular risk prediction.

The aim of the study was to measure high density lipoprotein cholesterol efflux capacity in young and middle-aged males and assess influence of atherosclerosis risk factors for this parameter.

Objectives: to measure high density lipoprotein cholesterol efflux capacity in young (25–39 years) and middle-aged (40–55 years) men and compare them; to assess association between high density lipoprotein cholesterol efflux capacity and other lipid metabolism parameters; to compare high density lipoprotein cholesterol efflux capacity with other atherosclerosis risks parameters.

Methods. A total of 172 healthy young and middle-aged men were involved into study. In vitro study of cholesterol efflux capacity was made using cell culture method: cholesterol labeled with fluorescence was incorporated to J774a.1 cells then these cells were incubated with prepared serum cholesterol acceptors and finally medium and serum and separately lysate intensity of fluorescence was measured and by that percentage cholesterol efflux capacity was assessed.

Results. Cholesterol efflux capacity parameters of young and middle-aged men wasn't statistically significant. Weak positive correlation between cholesterol efflux capacity and HDL-Ch concentration ($r_s = 0.15$; $p = 0.04$) was defined. A stronger correlation than whole sample ($r_s = 0.36$, $p = 0.004$) was defined in data of middle-aged men. Other lipid metabolism parameters had no correlation with cholesterol efflux capacity. We have not found differences in cholesterol efflux capacity between study subjects with normal and abnormal lipid metabolism parameters, body mass index, waist circumference, and level of physical activity. Higher cholesterol efflux capacity was found in middle-aged men with normal arterial blood pressure (40.64% and 30.44%, $p = 0.04$), and weak negative correlation between cholesterol efflux capacity and systolic ($r_s = -0.35$) and diastolic ($r_s = -0.33$) arterial blood pressures ($p = 0.01$). Our results show that cholesterol efflux capacity statistically significantly differs among smokers and non-

smokers (42% and 54.32%, $p = 0.03$) and former smokers and non-smokers (40.7% and 53.11%, $p = 0.047$) in young men group. Analysis of multiple risk factors showed that cholesterol efflux capacity in middle-aged men with 0-3 risk factors is statically significantly higher in comparison to men with more than 3 risk factors (46.56% and 34.38%, $p = 0.01$).

Conclusions. According to our results cholesterol efflux capacity is associated with serum HDL-Ch concentration. Men with particular cardiovascular risk factors (high arterial blood pressure, smoking and smoking history) and the higher number of present risk factors tend to have lower cholesterol efflux capacity.

Keywords. Atherosclerosis, cholesterol efflux capacity, high density lipoproteins

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju darbo vadovei doc. dr. Dovilei Karčiauskaitei už naudingus patarimus, atsakymus į iškilusius klausimus, pagalbą rašant magistrantūros baigiamąjį darbą, pozityvų bendravimą, padrąšinimą ir Vytautui Žėkui bei Linui Černiauskui už praktines žinias apie ląstelių auginimą ir pagalbą atliekant tyrimą. Taip pat dėkoju grupės vadovei doc. dr. Loretai Bagdonaitei už suteiktą informaciją ir Rūtai Rutkūnaitei, kurios dėka ši informacija mus pasiekdavo laiku.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Mitchell NM. Blood Vessels. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: Elsevier; 2015. p. 483-522.
2. Mirties atvejų ir jų priežasčių stebėsenos skyrius. Mirties priežastys 2018. Higienos instituto Sveikatos informacijos centras. ISSN 1392-9186.
3. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens AG, Ayers CR, Wedin KE, et al. HDL Cholesterol Efflux Capacity and Incident Cardiovascular Events. *N Engl J Med.* 2014; 371(25):2383-2393. DOI:10.1056/nejmoa1409065.
4. Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2011;364(2):127-135. DOI:10.1056/NEJMoa1001689.
5. Escolà-gil JC, Lee-rueckert M, Santos D, Cedó L, Blanco-vaca F, Julve J. Methods in Mouse Atherosclerosis. 2015; 1339. DOI:10.1007/978-1-4939-2929-0.
6. Saleheen D, Scott R, Javad S, Zhao W, Rodrigues A, Picataggi A, et al. Association of HDL cholesterol efflux capacity with incident coronary heart disease events: A prospective case-control study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015; 3(7):507-513. DOI:10.1016/S2213-8587(15)00126-6.
7. Mutharasan RK, Thaxton CS, Berry J, Daviglus ML, Yuan C, Sun J, et al. HDL efflux capacity, HDL particle size, and high-risk carotid atherosclerosis in a cohort of asymptomatic older adults: the Chicago Healthy Aging Study. *J Lipid Res.* 2017; 58(3):600-606. DOI:10.1194/jlr.P069039.
8. Remaley AT, Rifai N, Warnick GR. Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors. Sixth Edit. Elsevier Inc.; 2018. DOI:10.1016/b978-1-4160-6164-9.00027-5.
9. Mahley RW, Weisgraber KH, Farese R V. Disorders of Lipid Metabolism CHOLESTEROL. Thirteenth. Elsevier Inc.; 2016. DOI:10.1016/B978-0-323-29738-7.00037-X.
10. Kadziauskas J. Biochemijos pagrindai. Vilnius: Vilniaus universiteto I-kla; 2012.
11. Kučinskienė ZA. Klinikinės biochemijos Ir laboratorinės diagnostikos pagrindai. Vilnius: Vilniaus universiteto I-kla; 2008.
12. Genest J, Libby P. Lipoprotein Disorders and Cardiovascular Disease. Eleventh E. Elsevier 2019. DOI:10.1016/b978-1-4377-0398-6.00047-0.
13. Kummerow FA. The negative effects of hydrogenated trans fats and what to do about them. *Atherosclerosis* 2009; 205(2):458-465. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2009.03.009.

14. Rudkowska I. Talking about trans fatty acids. *Maturitas* 2016; 84:1-2.
DOI:10.1016/j.maturitas.2015.10.012
15. Nestel P. Trans fatty acids: are its cardiovascular risks fully appreciated? *Clin Ther.* 2014; 36(3):315-321. doi:10.1016/j.clinthera.2014.01.020.
16. Robinson JG. Overview of the 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. *Future Cardiol.* 2014; 10(2):149-152. doi:10.2217/fca.14.8.
17. Soh J, Josekutty J, Hussain MM, Lipoproteins M. *Lipids and Dyslipoproteinemia.* Twenty Thi. Elsevier 2016. DOI:10.1016/B978-1-4377-0974-2.00017-8.
18. Mansour MA. *Atherosclerotic Risk Factors.* Ninth Edit. Elsevier 2019.
DOI:10.1016/b978-1-4160-5223-4.00029-9.
19. Marshall WJ, Day A, Lapsley M. *Lipids, Lipoproteins and Cardiovascular Disease.* In: *Clinical chemistry.* Elsevier; 2017. p. 293-314.
20. Seidah NG, Awan Z, Chrétien M, Mbikay M. Pcsk9. *Circ Res.* 2018; 122(10):1420-1438.
DOI:10.1161/CIRCRESAHA.118.311227.
21. Madison BB. Srebp2: A master regulator of sterol and fatty acid synthesis. *J Lipid Res.* 2016;57(3):333-335. DOI:10.1194/jlr.c066712.
22. Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: From plaques to genes to statins. *Cell* 2015; 161(1):161-172. doi:10.1016/j.cell.2015.01.036.
23. Internetinè prieiga: <https://shawmedicine.weebly.com/what-is-ldl--hdl.html>.
24. Choi HY, Hafiane A, Schwertani A, Genest J. High-Density Lipoproteins: Biology, Epidemiology, and Clinical Management. *Can J Cardiol.* 2017; 33(3):325-333.
DOI:10.1016/j.cjca.2016.09.012.
25. Kontush A, Lhomme M, Chapman MJ. Unraveling the complexities of the HDL lipidome. *J Lipid Res.* 2013;54(11):2950-2963. DOI:10.1194/jlr.R036095.
26. Rye K-A, Barter PJ. Cardioprotective functions of HDLs. *J Lipid Res.* 2014; 55(2):168-179. DOI:10.1194/jlr.r039297.
27. Semenkovich CF. 206 - Disorders of Lipid Metabolism. *Twenty Fif.* Elsevier 2016.
DOI:10.1016/B978-1-4557-5017-7.00206-3.
28. Kohan AB, Wang F, Lo C-M, Liu M, Tso P. ApoA-IV: current and emerging roles in intestinal lipid metabolism, glucose homeostasis, and satiety. *Am J Physiol Liver Physiol.* 2015; 308(6):G472-G481. doi:10.1152/ajpgi.00098.2014.
29. Eieenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res.* 1984; 25.
30. Hellerstein M, Turner S. Reverse cholesterol transport fluxes. *Curr Opin Lipidol.* 2014; 25(1):40-47. DOI:10.1097/mol.0000000000000050.

31. Rosenson RS, Brewer HB, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. Cholesterol Efflux and Atheroprotection. *Circulation* 2012; 125(15):1905-1919. DOI:10.1161/circulationaha.111.066589.
32. Toth PP, Barter PJ, Rosenson RS, Boden WE, Chapman MJ, Cuchel M, et al. High-density lipoproteins: A consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol.* 2013; 7(5):484-525. DOI:10.1016/j.jacl.2013.08.001.
33. Charles MA, Kane JP. New molecular insights into CETP structure and function: a review. *J Lipid Res.* 2012; 53(8):1451-1458. DOI:10.1194/jlr.r027011.
34. Davidson M, Liu SX, Barter P, Brinton EA, Cannon CP, Gotto AM, et al. Measurement of LDL-C after treatment with the CETP inhibitor anacetrapib. *J Lipid Res.* 2012; 54(2):467-472. DOI:10.1194/jlr.m032615.
35. Rader DJ. HDL and cardiovascular disease. *Lancet* 2014; 45(9943):6-16. DOI:10.1016/j.ghir.2019.01.002.
36. Barr DP, Russ EM, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma: II. In atherosclerosis and related conditions. *Am J Med.* 1951; 11(4):480-493. DOI:10.1016/0002-9343(51)90183-0.
37. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: The Framingham study. *Am J Med.* 1977; 62(5):707-714. DOI:10.1016/0002-9343(77)90874-9.
38. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhala N, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: A meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010; 376(9753):1670-1681. DOI:10.1016/S0140-6736(10)61350-5.
39. Anastasius M, Kockx M, Jessup W, Sullivan D, Rye KA, Kritharides L. Cholesterol efflux capacity: An introduction for clinicians. *Am Heart J.* 2016;180:54-63. DOI:10.1016/j.ahj.2016.07.005.
40. Andreas R, März W. Cholesterol Efflux Capacity. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67(7):2488-2491. DOI:10.1161/atvbaha.113.301519.
41. Ritsch A, Scharnagl H, März W. HDL Cholesterol Efflux Capacity and Incident Cardiovascular Events. *N Engl J Med.* 2015; 371:2383-2393. DOI:10.1056/nejmoa1409065.
42. Rohatgi A, Grundy SM. Cholesterol efflux capacity as a therapeutic target rationale and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 66(20):2211-2213. DOI:10.1016/j.jacc.2015.09.012.
43. Song W, Wang W, Dou L-Y, Wang Y, Xu Y, Chen L-F, et al. The implication of cigarette

- smoking and cessation on macrophage cholesterol efflux in coronary artery disease patients. *J Lipid Res.* 2015; 56(3):682-691. DOI:10.1194/jlr.p055491.
44. Qiu C, Zhao X, Zhou Q, Zhang Z. High-density lipoprotein cholesterol efflux capacity is inversely associated with cardiovascular risk: A systematic review and meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):1-12. DOI:10.1186/s12944-017-0604-5.
 45. Tejera-Segura B, Macía-Díaz M, Machado JD, de Vera-González JD, García-Dopico A, Olmos JA, et al. HDL cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis patients: Contributing factors and relationship with subclinical atherosclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2017; 19(1):1-10. DOI:10.1186/s13075-017-1311-3.
 46. Karčiauskaitė D, Kemežytė-Selmistraitienė G, Žėkas V. Ankstyvosios aterosklerozės patogenezė ir laboratorinė diagnostika. *Lab Med.* 2015; 1(1):25-29.
 47. Sniderman AD, Thanassoulis G, Williams K, Pencina M. Risk of Premature Cardiovascular Disease vs the Number of Premature Cardiovascular Events. *JAMA Cardiol.* 2016; 1(4):492. DOI:10.1001/jamacardio.2016.0991.
 48. Lu M, Gursky O. Aggregation and fusion of low-density lipoproteins in vivo and in vitro. *Biomol Concepts.* 2013; 4(5):501-518. DOI:10.1515/bmc-2013-0016.
 49. Dang VT, Werstuck GH. Metabolomics-Based Biomarkers of the Pathogenesis of Atherosclerosis. *iMedPub Journals* 2016; (Cvd):1-6.
 50. Montrimaitė M, Petrikonytė D, Plikosova J, Karčiauskaitė D, Kučinskienė ZA. Lipidų ir lipoproteinų tyrimai vertinant širdies ir kraujagyslių ligų riziką. *Lab Med.* 2015; 3(3):137-142.
 51. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: A dynamic balance. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13(10):709-721. DOI:10.1038/nri3520.
 52. Fry A, Putrino D. Exercise decreases cardiovascular risk factors: Now what? *Int J Cardiol.* 2018; 254(2018):340-341. DOI:10.1016/j.ijcard.2017.12.023.
 53. Rizikos veiksniai: padidėjęs kraujospūdis. Lietuvos širdies asociacija. Prieiga per internetą:http://www.heart.lt/pagrindinis_meniu/rizikos_veiksniai/padidejes_kraujospudis/117/.
 54. Talbot CPJ, Plat J, Ritsch A, Mensink RP. Determinants of cholesterol efflux capacity in humans. *Prog Lipid Res.* 2018; 69(December 2017):21-32. DOI:10.1016/j.plipres.2017.12.001.
 55. Choi B, Vilahur G, Yadegar D, Viles-Gonzalez J, Badimon J. The Role of High-Density Lipoprotein Cholesterol in the Prevention and Possible Treatment of Cardiovascular Diseases. *Curr Mol Med.* 2006; 6(5):571-587. DOI:10.2174/156652406778018590.
 56. North BJ, Sinclair DA. The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circ*

- Res. 2012; 110(8):1097-1108. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.111.246876.
57. Koekemoer AL, Codd V, Masca NGD, Nelson CP, Musameh MD, Kaess BM, Hengstenber C, et al. Large-scale analysis of determinants, stability, and heritability of high-density lipoprotein cholesterol efflux capacity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017; 37(10):1956-1962. DOI:10.1161/ATVBAHA.117.309201.
 58. Berrougui H, Isabelle M, Cloutier M, Grenier G, Khalil A. Age-related impairment of HDL-mediated cholesterol efflux. *J Lipid Res.* 2006; 48(2):328-336. doi:10.1194/jlr.m600167-jlr200.
 59. Darabi M, Kontush A. Can phosphatidylserine enhance atheroprotective activities of high-density lipoprotein? *Biochimie.* 2016;120:81-86. DOI:10.1016/j.biochi.2015.06.022.
 60. Camont L, Lhomme M, Rached F, Goff WL, Nègre-Salvayre A, Salvayre R, et al. Small, Dense High-Density Lipoprotein-3 Particles Are Enriched in Negatively Charged Phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33(12):2715-2723. DOI:10.1161/atvbaha.113.301468.
 61. Du XM, Kim MJ, Hou L, Le Goff W, Chapman MJ, Van Eck M, et al. HDL particle size is a critical determinant of ABCA1-mediated macrophage cellular cholesterol export. *Circ Res.* 2015;116(7):1133-1142. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.116.305485.
 62. Holzer M, Trieb M, Konya V, Wadsack C, Heinemann A, Marsche G. Aging affects high-density lipoprotein composition and function. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids.* 2013; 1831(9):1442-1448. DOI:10.1016/j.bbalip.2013.06.004.
 63. Kingwell BA, Chapman MJ, Kontush A, Miller NE. HDL-targeted therapies: Progress, failures and future. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13(6):445-464. DOI:10.1038/nrd4279.
 64. Ding J, Reynolds LM, Zeller T, Müller C, Lohman K, Nicklas BJ, et al. Alterations of a cellular cholesterol metabolism network are a molecular feature of obesity-related type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Diabetes.* 2015; 64(10):3464-3474. DOI:10.2337/db14-1314.
 65. Autran D, Guerci B, Paul JL, Moulin P, Verges B, Durlach V, et al. Basal and postprandial serum-promoted cholesterol efflux in normolipidemic subjects: Importance of fat mass distribution. *Metabolism.* 2001; 50(11):1330-1335. DOI:10.1053/meta.2001.27206.
 66. Attia N, Fournier N, Védie B, Cambillau M, Beaune P, Ziegler O, et al. Impact of android overweight or obesity and insulin resistance on basal and postprandial SR-BI and ABCA1-mediated serum cholesterol efflux capacities. *Atherosclerosis.* 2010; 209(2):422-429. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2009.09.025.