

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

**KORTIZOLIO KONCENTRACIJOS PLAUKUOSE NUSTATYMAS
EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU IR
PRITAIKYMAS VERTINANT LĒTINIŲ STRESĄ**

Magistrantė RASA KARNICKAITĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas

dr. Dovilė Karčiauskaitė _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
hab.dr., prof. Z. Kučinskienė

leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

2016m., Vilnius

Turinys

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS.....	4
ĮVADAS	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	6
1.1. Streso apibrėžimas, susiformavimas ir pasekmės organizmui.....	6
1.2. Streso hormonas kortizolis. Jo išskyrimas, veikimas organizme.....	8
1.3. Streso vertinimo rodikliai	9
1.4. Psichologiniai testai lėtinio streso lygiui nustatyti.....	9
1.5. Kortizolio koncentracijos nustatymas įvairiose organizmo terpėse.....	11
1.5.1. Kortizolio nustatymas seilėse.....	12
1.5.2. Kortizolio nustatymas kraujyje	13
1.5.3. Kortizolio nustatymas šlapime	13
1.5.4. Kortizolio nustatymas plaukuose.	14
1.5.4.1. Kortizolio ir kitų medžiagų kaupimasis plaukuose. Plaukų savybės.....	15
1.5.4.2. Kortizolio nustatymo plaukuose metodai	17
1.5.4.3. Plaukų kaip tyrimo matricos privalumai	23
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	24
2.1. Tyrimo medžiaga.	24
2.1.1. Tiriamoji grupė.....	24
2.1.2. Tiriamosios medžiagos surinkimas	24
2.2. Psichosocialinis testas streso lygiui nustatyti	24
2.3. Įrenginiai ir piemonės	25
2.4. Reagentai.....	26
2.5. Plaukų kortizolio tyrimas HPLC-FLU chromatografijos metodu	27
2.5.1. Ekstrakto paruošimas	27
2.5.2. Kietafazė ekstrakcija	27
2.5.3. HPLC-FLU chromatografijos sąlygos	27
2.6. Plaukų ir seilių kortizolio tyrimas su Cortisol Saliva ELISA rinkiniu	28
2.7. Statistinė analizė	29
3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	30
3.1. Tiriamosios grupės apibūdinimas	30
3.2. Kortizolio ekstrakcijos iš plaukų sąlygų parinkimas	30
3.3. Kortizolio kiekio nustatymas HPLC-FLU metodu.....	31

3.4. Kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu.....	35
3.4.1. Plaukų kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu.....	35
3.4.2. Seilių kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu.....	35
3.5. Kortizolio kiekio palyginimas plaukų ir seilių mėginiuose	35
3.6. Kortizolio kiekio ir antropometrinių duomenų tarpusavio ryšys.....	36
3.7. Psichologinio streso įvertinimas	37
3.7.1. Psichosocialinio klausimyno rezultatai	37
3.7.2. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais.	38
3.7.3. Psichosocialinio klausimyno tarpusavio ryšys su kortizolio kiekiu.....	41
IŠVADOS	43
SUMMARY	44
NAUDOTI INFORMACIJOS ŠALTINIAI	45
PRIEDAI.....	52

Santrumpų sąrašas

AKS - arterinis kraujo spaudimas

AKTH - adrenokortikotropinas

DHEA - dehidroepiandrosteronas

GC-MS – dujų chromatografija – masių spektrometrija

KMI - kūno masės indeksas

LC-MS/MS – skysčių chromatografija – masių spektrometrija

PBS – (angl. phosphate buffered saline) fosfato buferinis druskos tirpalas

PHA - pogumbris – hipofizė – antinksčiai

PSS – subjektyviai suvokiamo streso skalė (angl. perceived stress scale)

SPE – kietosios fazės ekstrahavimas (angl. solid-phase extraction)

ŠSD - širdies susitraukimo dažnis

TNF α – naviko nekrozės alfa faktorius

IVADAS

Pastaruosius kelis dešimtmečius vis dažniau stresas vertinamas kaip vienas iš įvairių lėtinių ligų rizikos veiksnių. Ilgalaikis lėtinis stresas veikia depresijos vystymąsi, įtakoja širdies ir kraujagyslių ligų patogenezę [28; 36], veikia imuninę sistemą, organizmo metabolinius procesus [23; 54]. Streso pasireiškimas gali būti vertinamas pagal antropometrinius duomenis, įvairius psichologinius testus bei streso biožymenų koncentraciją. Streso metu išsiskiriantis hormonas kortizolis naudojamas kaip streso biožymuo ūminiam stresui nustatyti seilėse, šlapime ir kraujyje [16]. Tačiau kortizolio nustatymas šiuose organizmo skysčiuose leidžia įvertinti šio hormono koncentracijos padidėjimą trumpame laiko intervale ir neatspindi ilgalaikio proceso [23; 28; 36]. Reikia atkreipti dėmesį, kad natūraliai kortizolio koncentracija kraujyje priklauso nuo cirkadinio ritmo [3; 28; 36]. Taip pat šio hormono koncentracijai organizme įtaką daro įvairios situacijos, pasireiškiančios fiziologiniais ir psichologiniais stresoriais [28; 36]. Joms veikiant hormono koncentracija kraujyje padidėja ir vėliau grįžta į bazinį lygį per keletą valandų. Tai apsunkina kortizolio koncentracijos kraujyje kaip streso indikatorius vertinimą ir neparodo ilgalaikio streso poveikio [28]. Todėl buvo pradėta ieškoti alternatyvių žymenų lėtiniam stresui vertinti. Jau seniai plaukai naudojami kaip substratas įvairių aplinkos veiksnių įtakos vertinimui, taip pat padeda aptikti narkotikų, dopingo vartojimą kelių metų laikotarpyje. Pasinaudojant plaukų savybe kaupti įvairias egzogenines ir endogenines medžiagas, kortizolio kiekis plaukuose pasiūlytas kaip lėtinio streso žymuo [28]. Žinoma, kad plaukai per vieną mėnesį paauga apie 1 cm, todėl 1-ame cm plaukų nuo skalpo esantis kortizolio kiekis atspindi vidutinę 1 mėnesio kortizolio koncentraciją ir tuo pačiu per 1 mėnesį patirtą streso lygį [36]. Tai mums leidžia analizuoti ilgalaikius su stresu susijusius procesus.

Šio darbo tikslas – nustatyti kortizolio kiekį plaukuose vyrų grupėje ir palyginti su psichologinio streso vertinimo klausimyno rezultatais.

Darbo uždaviniai:

1. Išanalizavus mokslinę literatūrą, parinkti metodiką plaukų kortizolio nustatymui chromatografiniais metodais.
2. Kiekybiškai įvertinti tiriamųjų asmenų kortizolio kiekį plaukuose.
3. Įvertinti kortizolio koncentracijos ryšį skirtingose ėminiuose: plaukuose ir seilėse.
4. Įvertinti kortizolio koncentracijos plaukuose sąsajas su lėtiniu stresu, duomenis lyginant su stresu pasireiškimu pagal specializuotus streso vertinimo klausimynus.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Streso apibrėžimas, susiformavimas ir pasekmės organizmui

Stresas – terminas, apibūdinantis pasikeitusią psichologinę ir emocinę būseną [39; 54]. Žmogui patiriant stresą, organizme prasideda nespecifiniai, adaptaciniai procesai, kurie lemia alostatinio krūvio kaupimąsi [2; 39; 47]. Alostatinis krūvis (angl. allostatic load) – tai organizmo „susidėvėjimais“, kuri lemia ilgą laiką dėl streso poveikio vykstantys adaptaciniai procesai, palaikantys homeostazę organizmo sistemose. Alostatinė apkrova gali būti kiekybiškai išmatuojama per fizinius pokyčius, pavyzdžiui, kraujospūdžio, širdies susitraukimų dažnį, juosmens - klubų santykį ir kūno riebalų procentą arba per biochemines įvairių medžiagų koncentracijas, įskaitant kortizolio [54], antinksčių katecholaminų, prolaktino, oksitocino, renino [5], didelio tankio lipoproteinų (DTL), bendro cholesterolio:DTL santykį, trigliceridų, glikozilinto hemoglobino, gliukozės, C-reaktyvaus baltymo, fibrinogeno, D-dimerų ir naviko nekrozės alfa faktoriaus (TNF α) kiekį kraujyje [54].

Galimi du streso atsakai: simpatinė nervų sistema – antinksčiai – smegenys atsako kelias, kuris streso atveju yra greitai aktyvuojamas [28; 56; 69], kitas kelias vyksta per pogumbri – hipofizę – antinksčius (PHA) [23; 28; 69]. Šis kelias aktyvuojamas kiek lėčiau nei pirmasis [69]. Antruoju atveju pogumbris pagamina kortikotropinę atpalaiduojantį hormoną [4; 28], kuris paskatina hipofizę gaminti adrenokortikotropinę (AKTH) [5]. Šis hormonas patenka į kraują ir nunešamas į antinksčius. Antinksčiuose, paveikus AKTH, pradedamas gaminti streso hormonas – kortizolis. [19; 28; 69]. Kortizolio sekrecijos padidėjimas stebimas praėjus 15-30 min. nuo AKTH poveikio pradžios antiksčiuose [2; 19]. Kortizolis yra labai svarbus biologinis streso rodiklis. Jis padeda išlaikyti organizme homeostazę per metaboles ir imunines reakcijas. Žmogaus organizmas per dieną išskiria apytikriai 10 mg kortizolio [69].

Dažnai stresas skirstomas į „gerąjį“ ir „blogąjį“ [39]. Streso metu pradžioje vykstantys fiziologiniai pokyčiai atlieka adaptacinį vaidmenį, kai kūnas bando išlaikyti homeostazę, nepaisant streso [7]. Stresas trunka trumpai, palieka teigiamas emocijas. Visa tai vadinama geruoju stresu [39; 54].

Streso metu vyksta šie fiziologiniai pokyčiai: energijos mobilizacija smegenų ir raumenų funkcijų išlaikymui; budrumas ir sukauptas dėmesys į galimą grėsmę; padidėja smegenų perfuzijos intensyvumas ir gliukozės panaudojimas smegenyse; suintensyvěja širdies ir kraujagyslių darbas bei kvėpavimas, perskirstoma kraujotaka, padidinant medžiagų

ir energijos tiekimą į smegenis ir raumenis; imuninės sistemos funkcijų moduliavimas; slopinama reprodukcinė sistema ir seksualinis elgesys, sumažėja apetitas [5]. Tačiau patiriant padidėjusią alostatinę apkrovą, fiziologiniai pokyčiai siejasi su žalingomis pasekmėmis [23; 39; 54]. Sukeliama makrofagų infiltracija į audinius, oksidacinis stresas, atminties sutrikimas ir bloga nuotaika, paspartinamas ligų vystymasis [47]. Jautriausiai reaguoja neuroendokrininė, širdies ir kraujagyslių, imuninė, žarnyno sistemos. Tai apima psichinės sveikatos sutrikimų išsivystymą arba pasunkėjimą [23; 39; 54], hipertenziją, aterosklerozę [47], padidėjusią širdies ir kraujagyslių ligų riziką, nutukimą, 2 tipo cukrinį diabetą, lėtinės obstrukcinės plaučių ligos arba astmos paūmėjimą, odos ligų, tokių kaip psoriazė, paūmėjimą, opinio kolito padidėjusią riziką, sumažėjusį vaisingumą ir blogą nėštumo baigtį [39; 54]. Tokias pasekmes iššaukiantis stresas laikomas bloguoju [39].

Nepakankama ar per didelė antinksčių ir autonominės nervų sistemos funkcija yra žalinga sveikatai ir išlikimui. Nerimas, pastovus nepageidaujamų aplinkoje dirgiklių, kaip triukšmas, tarša, tarpasmeniniai konfliktai, gyvenimo būdo pokyčiai [39], chroninis skausmas [56] gali lemti lėtinio streso atsiradimą. Pasak N. Ali ir J. C. Pruessner [2], vienas iš veiksnių, susijusių su streso sistemų disreguliacija yra ankstyvosios gyvenimo nelaimės (angl. early life adversity - ELA). Įvairūs veiksniai, tokie kaip prasta tėvų globa, vaikystės traumos ir nepriežiūra, fizinė ir seksualinė prievarta, siejasi su psichologine bei fiziologine gerove vėlesniame gyvenime ir gali prisidėti prie alostatinio krūvio padidėjimo. ELA laikomas rizikos faktoriu depresijos, potrauminių streso sutrikimų, šizofrenijos ir valgymo sutrikimų atsiradimui vėlesniame gyvenime.

Nustatyta, kad lėtinis stresas, patiriamas jaunystėje (seksualinė prievarta, tėvų liga, prasta socialinė ir ekonominė padėtis) ir/ar suaugus (darbo pokyčiai, socialinė izoliacija, globotojo sindromas), susijęs su padidinta koronarinės širdies ligos (KŠL) rizika bei aterosklerozės vystymosi pagreitinimu. Stresoriai paskatina kraujo cholesterolio ir trigliceridų koncentracijos padidėjimą kraujyje, o tai lemia aterosklerozinių plokštelių vystymąsi [33]. Padidėjęs alostatinis krūvis sustiprina kraujo turbulenciją kraujagyslėse ir paskatina ateromos progresavimą bei komplikacijas [47]. Pasak A. Mariotti [38], stresas padidina cirkuliuojančių uždegiminių leukocitų skaičių dėl tiesioginio kraujodaros kamieninių ląstelių proliferacijos stimuliavimo, taip pat leukocitų migraciją ir jų mobilizaciją į kraują. Dėl ilgalaikio streso padidėja uždegiminių ląstelių kiekis aterosklerozinėje plokštelėje, padidėja proteazių aktyvumas, o tai savo ruožtu padidina plokštelės nestabilumą [38]. Taip pat stresas skatina uždegiminių citokino IL-6 ir chemokino CXCL1 išsiskyrimą, kurie taip pat skatina šios ligos vystymąsi. Atliktame tyrime su pelėmis atrasta, kad, veikiant psichologiniam ar kartu ir

fiziologiniam stresui, kraujyje padidėja CD68+ makrofagų ir CD3+ T ląstelių. Tai rodo, kaip stresas susietas su imunine sistema, o per ją ir su aterosklerozės vystymusi [33].

Mokslininkai pastebėjo, kad žmonėms, kurie buvo varginami lėtinio skausmo, kortizolio kiekis plaukuose buvo padidėjęs, lyginant su sveikais asmenimis [36; 67]. S. Karla kartu su kolegomis [27] tirdami sveikų nėščių moterų plaukus, taip pat nustatė padidėjusią kortizolio koncentraciją, kuri tiesiogiai koreliuoja su subjektyviai suvokiamo streso skale (angl. perceived stress scale - PSS).

1.2. Streso hormonas kortizolis. Jo išskyrimas, veikimas organizme

Kortizolis yra steroidinis hormonas, sintetinamas iš cholesterolio antinksčių žievėje, lytinėse liaukose, placentoje. Antinksčiai sudaryti iš antinksčių šerdies ir žievės. Žievė padalinta į tris anatomines zonas: kamuolinę (glomerulinę), kuri gamina mineralokortikoidus (pavyzdžiui, kortikosteroną ir aldosteroną), pluoštinę ir tinklinę sritis, kuriose gaminami gliukokortikoidai (11-deoksikortizolis, kortizolis) ir antinksčių androgenai (dehidroepiandrosteronedionas (DHEA), 5 DHEA-sulfatas (DHEAS)), kurie antinksčių gaminami gerokai didesniais kiekiais negu androstendionas ir testosteronas. Steroidiniai hormonai tiriami imuniniais, skysčių ar dujų chromatografijos su masių spektrometrija metodais [60].

Gliukokortikoidai yra dažniausiai naudojamas streso biožymuo. Žmonių, primatų ir daugelio didesnių žinduolių organizme kortizolis yra pagrindinis gliukokortikoidas. Tuo tarpu kitų stuburinių gyvūnų organizme pirminis streso hormonas yra kortikosteronas [54]. Gliukokortikoidai pasižymi antiuždegiminėmis, antialerginėmis ir imunosupresinėmis savybėmis. Jie mažina skausmo pojūtį, didina fizinio krūvio pajėgumą [51].

Kortizolis yra plataus veikimo spektro hormonas [36]. Kai organizmas patiria fiziologinį stresą, kortizolis mobilizuoja energijos atsargas [54], suaktyvindamas gliukozės ir lipidų metabolizmą [19; 36], moduliuoja imuninę sistemą (anti-uždegiminiai ir imunosupresiniai veiksniai [36; 54], ypač per uždegimą skatinančių citokinų slopinimą, užkrūčio liaukos T ląstelių kiekio ir judėjimo slopinimą bei timocitų apoptozės skatinimą [61]). Kušingo sindromo atveju, kuris pasireiškia labai padidėjus kortizolio koncentracijai arba naudojant dideles dozes egzogeninių gliukokortikoidų, plaukuose aptiksime taip pat padidėjusią kortizolio koncentraciją [36-37; 59; 65]. Kušingo sindromas dėl panašių simptomų dažnai dar siejamas su metaboliniu sindromu [59; 62], kuris apima nutukimą, hipertenziją, hiperglikemiją, dislipidemiją, širdies ligas [62]. Taip pat padidėjusi kortizolio koncentracija siejama su depresijos, fibromialgijos, vainikinių arterijų ligos, miego sutrikimo

vystymusi [73], rūkymu ir alkoholizmu [59]. J. M. Zeitzer ir bendraautoriai [73] pažymi, kad yra ryšys tarp kortizolio koncentracijos svyravimų paros metu ir įvairių vėžio rūšių (krūties, plaučių, kiaušidžių). Stebint kortizolio kiekio pokyčius organizme, galima numatyti ligos progresavimą ir blogesnę baigtį (trumpesnę išgyvenamumą sergant krūties, kiaušidžių, plaučių vėžiu). Ilgą laiką padidėjusi kortizolio koncentracija turi poveikį kūno sudėjimui: padidėja vidaus organų riebalų masė, pasikeičia riebalų pasiskirstymas kūne, riebalinis audinys kaupiasi ant pilvo ir liemens, vystosi raumenų atrofija [36]. Didelės kortizolio koncentracijos gali sukelti hipertenziją, atsparumą insulinui, dislipidemiją, o tai didina širdies ir kraujagyslių ligų riziką [36; 62].

1.3. Streso vertinimo rodikliai

Egzistuoja daug įvairių metodų, padedančių nustatyti žmogaus patiriamo streso lygmenį. Tai gali būti įvairūs psichologiniai testai, kurie specializuojasi į specifinių stresorių sukkelto streso, psichologinių ligų ar į bendrai suvokiamą stresą testus. Stresą galima įvertinti įvairiais biocheminiais metodais, tiriant seilių, kraujo, paros šlapimo, plaukų mėginius. Biocheminiais metodais nustatoma kortizolio koncentracija pasirinktoje matricoje. Taip pat streso įtaką žmogui galima įvertinti antropometriniiais parametrais: arterinio kraujo spaudimo (AKS), širdies susitraukimo dažnio (ŠSD) rodmenimis, paskaičiuotu kūno masės indeksu (KMI) ar įvertinant liemens apimtį. Taip pat atsaką į stresą galime vertinti dirbtinai jį sukeliant įvairiais stresoriais, pavyzdžiui šalčiu, staigiu žinių patikrinimu, priminant stiprų pyktį sukėlusias situacijas. Dirbtinai sukėlus stresą matuojamas AKS bei ŠSD pokyčiai.

1.4. Psichologiniai testai lėtinio streso lygiui nustatyti

Mokslininkai, siekdami įvertinti tiriamųjų asmenų patiriamo streso lygį, naudoja įvairius psichologinius testus, nagrinėjančius skirtingus psichologinio streso šaltinius, trukmę, dalis jų daugiau specializuoti, susieti su psichologinėmis ligomis, sutrikimais, kita dalis - labiau apibendrinantys.

Psichologiniai testai streso įvertinimui

Vienas dažniausių mokslininkų naudojamų psichologinių testų - subjektyviai suvokiamo streso skalė (angl. Perceived Stress Scale – PSS). Ji naudojama, norint įvertinti dalyvių streso lygmenį [28; 34; 44; 59]. Testas paprastai susideda iš 14-os arba 10-ies klausimų, vertinamų 5-ių balų skalėje (1- „niekada”, 5 – „labai dažnai”) [34; 41; 46]. Respondentai įvertina savo gyvenime patiriamą stresą [46]. Jie turi įvertinti, kiek

nenuspėjamas, nekontroliuojamas ir perkrautas yra jų gyvenimas tam tikru gyvenimo laikotarpiu [34; 41]. Šio testo vidinis suderinamumas yra aukštas (Kronbacho $\alpha=0,849$) [46].

Lėtinio streso Trier aprašas (angl. Trier Inventory of Chronic Stress - TICS) - savarankiška ataskaitos priemonė apie suvokiamą stresą [15]. Ji susideda iš devynių lėtinio streso subskalių: darbo, socialinės perkrovos, viršvalandžių darbe, socialinio pripažinimo trūkumo, nepasitenkinimo darbu, socialinės įtampos, spaudimo atlikti darbą, socialinio bendravimo našumo spaudimo ir socialinės izoliacijos. Skalė taip pat vertina "polinkį į rūpesčius" kaip asmenybės bruožą. Jis apibrėžiamas kaip nusiteikimas nerimauti arba reakcija į įvairias situacijas. Dalyviai turi nurodyti, kaip dažnai aprašytas stresines situacijas patyrė per pastaruosius metus [2].

Supančios aplinkos įtakos asmeniui įvertinimo psichologiniai testai

N. Ali su J. C. Pruessner [2] nagrinėdami suaugusių žmonių streso fiziologiją, be PSS naudojo ir tėvų ir vaikų ryšio testą (angl. Parental Bonding Instrument - PBI), vertinantį tėvų priežiūrą ir perdėtą vaikų saugojimą iki 16 metų. Jie atrado ryšį tarp PBI rezultatų ir kortizolio kiekio seilėse padidėjimo.

Kitas naudojamas testas - vaikystės traumų klausimynas (angl. Childhood Trauma Questionnaire – CTQ). Klausimynas susideda iš klausimų apie patirtas įvairias traumuojančias situacijas vaikystėje ir įvertina vaikų išnaudojimo patirtį. CTQ klausimų parinktys yra grindžiamos literatūros apžvalga apie vaikų prievartą ir vertina vaikystėje buvusį netinkamą elgesį. Klausimai suskirstyti į sritis, vertinančias: piktnaudžiavimą (emocinį, fizinį ir seksualinį) ir nepriežiūrą (emocinę ir fizinę). Šiuo testu bandyta išsiaiškinti, kaip vaikystės patirtis įtakoja suaugusio žmogaus gyvenimą [2].

Miesto streso indeksas (angl. City stress index) apima klausimus apie esamą kaimynystę ir įvertina, kiek ji sukelia streso tiriamajam asmeniui. Chaos, Hubbub ir Order skalė nagrinėja streso lygį namų aplinkoje [44].

Su asmenybe, asmens psichologine būkle susiję psichologiniai testai

Rozenbergo savigarbos skalė (angl. Rosenberg Self-Esteem Scale – RSES) naudojama įvertinti savigarbos supratimą [2].

Spielbergo pykčio ir nerimo skalės. Abiejų skalių rezultatai skaičiuojami po 10-40 taškų. Didesnis taškų skaičius rodo intensyvesnį nerimą ir pyktį [6].

Teigiamo poveikio, neigiamo poveikio emocijų reakcijų (afekto) skalė (angl. Positive affect negative affect scale – PANAS). Tai 20-ies klausimų testas, atspindintis

dispozicinius aspektus (individo polinkį vienaip ar kitaip elgtis) esant tam tikroms situacijoms [34].

Testai psichinių ligų rizikos įvertinimui

Beck depresijos aprašas-II (angl. Beck Depression Inventory II – DBI-II), kuris matuoja pažinimo, somatinius bei elgsenos depresijos rodiklius, patirtus per praėjusias dvi savaites [2; 34].

Platus testų pasirinkimas leidžia detalizuoti streso tyrimus, atsižvelgiant į tiriamųjų grupes, tyrimo tikslą bei ieškomas sąsajas su kitais tyrimais. K. M. O'Brien su kolegomis [44] atlikti tyrimai parodė, kad ne visi psichologiniai testai, nurodantys streso lygį, koreliuoja su padidėjusiu kortizolio kiekiu plaukuose. Pasak jų, skirtingi streso nustatymo testai nagrinėja skirtingus stresorių šaltinius. Pavyzdžiui, jeigu patiriamas nuolatinis stresas darbe, bet namuose ne (tai nagrinėja skirtingi testai), kortizolio kiekis plaukuose ne visada parodys lėtinį stresą. Atskirai kiekvienas domenai nekoreliuoja su kortizolio kiekiu, reikia duomenis derinti [44].

1.5. Kortizolio koncentracijos nustatymas įvairiose organizmo terpėse

Kortizolio lygiui organizme nustatyti dažnai naudojami seilių, kraujo serumo ar plazmos bei šlapimo mėginiai. Seilių ar kraujo plazmos mėginių tyrimai atspindi momentinę PHA veiklą ir parodo tuo metu cirkuliuojančio kortizolio lygį [19; 61], o šlapimo mėginiai – kortizolį, sekretuojamą per palyginti trumpą laiką (paprastai 24 val.) [19; 52; 61]. Tačiau 24 valandų šlapime kortizolio kiekio nustatymas, parodant PHA aktyvumą, nepakankamas lėtiniam stresui nagrinėti, reikia ilgesnio laikotarpio – keletos mėnesių [12].

Norint išsiaiškinti, kaip kortizolio koncentracija keičiasi nuo fizinio krūvio pokyčių, buvo atlikti tyrimai su seilių mėginiais. Tyrimų metu dalyviai atliko didelio fizinio intensyvumo pratimus (apie ~70% deguonies įsisavinimas (VO_{2max})). Išmatuota seilių ir kraujo kortizolio koncentracija prieš ir po fizinio aktyvumo. Rezultatai parodė padidėjusią kortizolio koncentraciją abiejuose organizmo skysčiuose atlikus pratimus [24]. A. M. Hansen su kolegomis [22] tyrė fiziškai aktyvių darbo ir pertraukų metu darbuotojų streso lygį. Darbuotojai, kurie buvo fiziškai aktyvūs pertraukų metu, jautėsi energingesni, bet seilių kortizolio koncentracija vakare buvo padidėjusi [22]. Tačiau ši terpė nėra labai tinkama ilgalaikio streso tyrimams. Visų pirma, PHA ašis yra labai reaktivi ir tyrimo dalyviai gali susidurti su stresu prieš vertinimą, kuris gali turėti įtakos antinksčių veiklai. Taip pat kortizolio kiekis priklauso nuo cirkadinio ritmo [16; 19; 61]. Didžiausia koncentracija būna

ryte [57], 30-50 min. po atsibudimo ir po truputį dienos metu mažėja. Taip pat pastebėta, kad kortizolio koncentracija didesnė žiemos periodu nei vasarą [4]. Kortizolio koncentraciją padidina ūmus stresas, alkoholio vartojimas, įtakoja mitybos racionas, fizinis aktyvumas, rūkymas (nikotinas) [16; 61].

Buvo atlikti kortizolio tyrimai seilėse, kraujyje ir šlapime, siekiant gauti informacijos apie ilgalaikę kortizolio sekreciją [19]. A. Sjörs su kolegomis [57] tyrė kortizolio kiekį seilėse ir bandė sieti rezultatus su stresu, patiriamu darbe ir namuose. T. Reinehr su kolegomis [52] tyrė kortizolio kiekį paros šlapime ir kraujo serume. Jie ieškojo sąsajų tarp kortizolio kiekio padidėjimo ir metabolinio sindromo nutukusiuose vaikuose. Tačiau kraujo ir seilių kortizolio tyrimai neparodo tikslios paros kortizolio koncentracijos, kadangi mėginiai imami periodiškai dienos eigoje, tačiau praleidžiamas nakties/miego periodas [19]. Taip pat buvo atlikti tyrimai ir nustatyta, kad kortizolio kiekį seilių ir kraujo mėginiuose įtakoja prieš tyrimą valgytas maistas, rūkymas, fizinis aktyvumas [12]. Kraujo ir šlapimo tyrimus gali įtakoti vaistai [51-52]. Be viso to, dalyviai gali nesilaikyti seilių paėmimo protokolo [19].

1.5.1. Kortizolio nustatymas seilėse.

Kortizolio koncentracijos nustatymas seilėse yra plačiai naudojamas metodas. Hormono koncentracija vertinama streso tyrimuose [28]. Šis vertinimas turi privalumų: tai patogus, neinvazinis [19; 54], saugus, standartizuotas [4] metodas, mėginiai gali būti renkami ne medicinos personalo ar net pačių dalyvių [19], sumažina streso lygį mėginio ėmimo metu, ekonomiškai [28]. Kortizolis seilėse išlieka stabilus ir galima laikyti mėginius kambario temperatūroje iki 4-ių savaičių be šio hormono kiekio pakitimų. Norint mėginį ilgiau išlaikyti stabilų, jį reikia laikyti užšaldytą -20°C temperatūroje. Šie temperatūriniai skirtumai neįtakoja kortizolio kiekio [4]. Taip pat seilių kortizolio koncentracija koreliuoja su koncentracija serume. Kraujyje dalis kortizolio yra susijungęs su kraujo baltymais. Tuo tarpu seilėse 70 procentų kortizolio kiekio sudaro laisvas kraujo kortizolis, kuris patenka difuzijos būdu per seilių liaukų ląstelių bazolateralią membraną [4].

Tačiau kortizolis seilėse parodo tik momentinį, trumpo laiko kortizolio koncentracijos padidėjimą [54]. Kortizolio kiekis padidėja maždaug po 20-30 min. nuo stresorių sukeltos PHA ašies aktyvacijos ir, pasibaigus stimuliacijai, po 1 val grįžta į bazinį lygį [2]. Todėl daugelis šiuolaikinių tyrimų atliekama kombinuojant seilių mėginius nuo tiriamojo asmens pabudimo iki ėjimo miegoti [57]. Tačiau gali skirtis atskirų dalyvių mėginių paėmimo tvarkaraštis [54]. Miego metu mėginiai neimami, skiriasi dalyvių miego trukmė, kokybė. Tai

taip pat įtakoja kortizolio koncentraciją, todėl sudėtingėja vertinimas [57]. Taip pat ši metodologija apsunkina didesnių populiacijų ištyrimą [54].

A. Sjörs A. su kolegomis [57] tyrė sveikų žmonių darbe ir namų aplinkoje patiriamo streso lygį, matuojant visos dienos seilių mėginiuose kortizolio kiekį ir kaip jis koreliuoja su psichologiniais streso testų rezultatais. Rezultatai parodė, kad dalyvių, kurie turėjo aukštą streso lygį tiek darbe, tiek namų aplinkoje, rytiniuose seilių mėginiuose kortizolio kiekis buvo mažesnis, lyginant su tais, kurių streso lygis aukštas darbe, bet ne namų aplinkoje. Galima manyti, kad streso nebuvimas namuose suteikia geresnę miego kokybę. Pasak autorių, ilgesnė miego trukmė yra susijusi su dinamiškesne kortizolio sekrecija ir aukštesniu kortizolio lygiu ryte ir tai galėjo lemti aukščiau minėtus rezultatus.

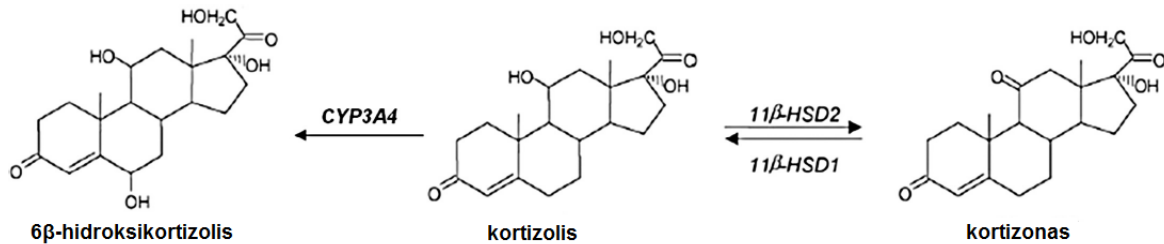
1.5.2. Kortizolio nustatymas kraujyje

Kraujo plazmoje, serume matuojama kortizolio koncentracija parodo hormono kiekio padidėjimą per trumpą laikotarpį ir rezultatai siejami su ūminiu stresu. Reikia atkreipti dėmesį, kad kortizolio kiekiui kraujyje įtakos turi cirkadinis ciklas. Sveikiems žmonėms didžiausia kortizolio koncentracija nustatoma anksti ryte ir vėliau dienos eigoje po truputį mažėja. Momentinis kortizolio kiekio kraujyje pamatavimas negali parodyti ilgalaikio proceso [54]. Be to, matuojant serumo kortizolio kiekį, įvertinamas tiek su baltymais susijungęs, tiek laisvas (kuris yra bioaktyvus) kortizolis [4; 54]. Serumo kortizolio koncentracijai įtakos turi kortizolio-globulino [54] ar kortizolio-albuminų [4] kiekio pokyčiai (pvz. kontraceptinių tablečių naudojimo ar nėštumo metu). Tai lemia klaidingai didesnę bendro kortizolio koncentraciją, net ir nesant streso ar laisvo kortizolio padidėjimo [54]. Tam tikrų vaistų vartojimas, kaip beta blokatoriai, diuretikai ir oraliniai hipoglikeminiai vaistai [6], gepironas (5-HT_{1A} receptorių agonistas), naltreksonas (opiatų receptorių antagonistas), SKF-91488 (histamino metiltransferazės inhibitorius) [5], gali įtakoti kortizolio kiekio padidėjimą organizme [4]. Narkotikai, kaip pavyzdžiui ekstazi, suaktyvina PHA ašį ir paskatina kortizolio sekreciją [26; 45]. Taipogi kai kurios ligos turi panašų poveikį. Pavyzdžiui, nervinės anoreksijos atveju, kuria sergant yra padidinta kortikotropiną stimuliuojančio hormono sekrecija, didėja ir kortizolio išskyrimas [25]. Be to, mėginio paėmimas iš venos gali savaime būti streso šaltinis ir padidinti kortizolio kiekį paimtame serume [4].

1.5.3. Kortizolio nustatymas šlapime

Kortizolis metabolizuojamas kepenyse, inkstuose, riebaliniame audinyje, seilių liaukose ir kituose organuose. Kepenyse redukuojamas kortizolio A žiedas ir C₂₀-keto grupė

bei CYP3A fermentas hidroksilina hormoną į 6β-hidroksikortizolį. 6β-hidroksikortizolis, laisvas kortizolis kartu su kitais metabolitais ekskretuojami į šlapimą [32; 70]. Daugiausiai inkstuose esantis fermentas 11β-hidroksisteroiddehidrogenazė 2 (11β-HSD2) kortizolį verčia į neaktyvią jo formą – kortizoną, taip apsaugant inkstuose esančius mineralokortikosteroidų receptorių nuo per didelio kiekio kortizolio (1 pav.). 11β-hidroksisteroiddehidrogenazės 1 izoforma (11β-HSD1) veikia atvirkščiai antrojo tipo: kortizoną verčia atgal į kortizolį kepenyse, riebaliniame audinyje [50; 70].



1 pav. Kortizolio metabolizmas. (11β-HSD1 - 11β-hidroksisteroiddehidrogenazė 1, 11β-HSD2 - 11β-hidroksisteroiddehidrogenazė 2) [70].

25% kortizolio išskiriama per tulžį, o likę 75% išskiriami per inkstus laisvoje formoje. Inkstų sekrecija priklauso nuo glomerulų ir kanalėlių funkcijos [4]. Kortizolio kiekis paprastai yra vertinamas paros šlapime. Jame nustatoma visos paros laisvo kortizolio koncentracija, tokiu būdu išvengiant kortizolio pokyčių dėl cirkadinio ritmo [52; 54]. Išskiriamo kortizolio su šlapimu paros kiekis taip pat priklauso nuo tinkamo 24 valandų šlapimo surinkimo. Todėl šlapimo kortizolis ne visada koreliuoja su laisvo kortizolio koncentracija kraujyje [4]. Taip pat reikia atkreipti dėmesį, kad šis tyrimas negali būti naudojamas tais atvejais, kai sergama lėtiniu inkstų funkcijos nepakankamumu arba vykdomos dializės [54]. Be viso to, šlapime kortizolis aptinkamas tikrai iki 36 valandų ir neparodo lėtinio koncentracijos padidėjimo [51].

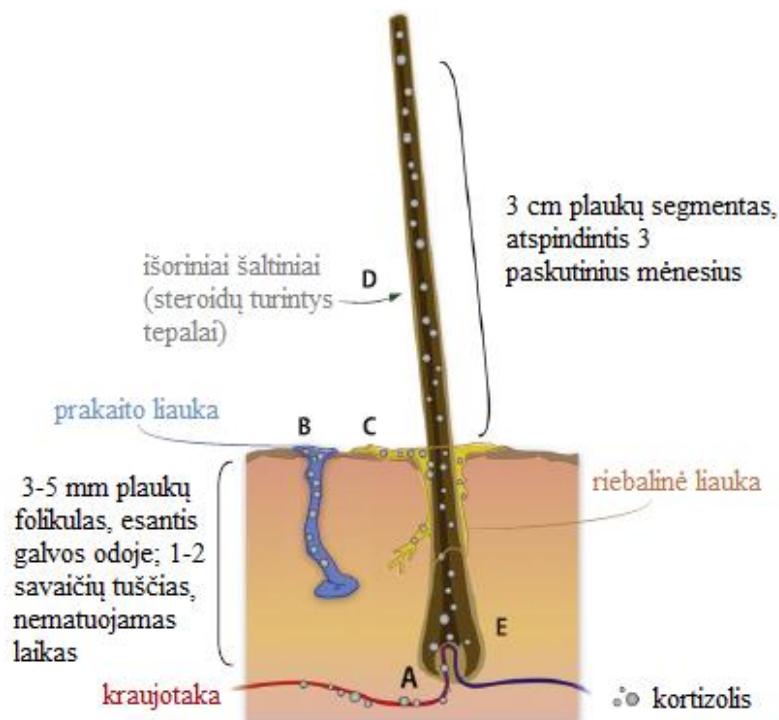
1.5.4. Kortizolio nustatymas plaukuose.

Glukokortikoidus ir kitus steroidinius hormonus naudoja sportininkai, siekdami pagerinti savo rezultatus. Todėl buvo susidomėta šių steroidinių hormonų išskyrimu iš plaukų ir taip identifikuojant sportininkus, vartojusius neleistinus preparatus ilgesnį laiką prieš varžybas, nes plaukai pasižymi „ilgąja atmintimi“. Paprastai tiriamas atletų kraujas, šlapimas, tačiau šie mėginiai gali parodyti tik vėliausiai prieš kelias paras vartotus neleistinus preparatus. [20; 51]. E. Russell E. su kolegomis [54] nustatė, kad kortizolio kiekis 24 valandų šlapime koreliavo su kortizolio kiekiu plaukuose, bet nerado reikšmingos koreliacijos tarp plaukų

kortizolio kiekio lyginant su seilių ar kraujo serumo kortizoliu. Panašius rezultatus gavo ir B. J. van Holland kartu su kolegomis [66], kur kortizolio seilėse ir plaukuose koncentracijos tarpusavyje nekoreliavo.

1.5.4.1. Kortizolio ir kitų medžiagų kaupimasis plaukuose. Plaukų savybės.

Kintz P. [29] atliko bandymus su plaukais, fiksuojant juose vaistų likučius. Šis bandymas parodė, kad plaukai ties šaknimis kaupia chemines medžiagas. Kiti autoriai [51; 55] mini plaukų savybę kaupti aplinkos toksinus. Skirtingose galvos vietose plaukų augimo greitis skiriasi. Pastoviausias plaukų augimo tempas yra galvos užpakalinėje viršutinėje zonoje [61]. Nustatyta, kad plaukai per mėnesį vidutiniškai paauga apie vieną centimetrą [20; 51; 55; 59; 61]. Kortizolio patekimas iš kraujotakos į plauką iki šiol nėra pilnai ištirtas. Manoma, kad kaip lipofiliniai hormonai, kortizolis pasyviai difunduoja iš kraujo kapiliarų, supančių plaukų folikulus, į augančių plaukų ląsteles [20-21; 40; 61]. Be to T. Stadler ir C. Kirschbaum [61] mini galimą kortizolio patekimą į plauko struktūrą iš prakaito ir riebalų liaukų per jų turinį. Taip pat yra hipotezė, kad kortizolis gali patekti į plauką iš išorinių šaltinių (pvz. medicininės paskirties tepalų, kurių sudėtyje yra steroidų, tačiau tai mažai tikėtinas variantas, kad jie tiesioginio kontakto su plauku metu patektų į vidų) [20; 61]. Dar vienas galimas kortizolio atsiradimo plauke variantas, kad pats plauko folikulas, aktyvintas PHA ašies hormonų (kortikotropiną stimuliuojančio hormono), sugeba sintetinti ir išskirti kortizolį (2 pav.) [20; 40; 61]. Dėl šios priežasties kortizolio kiekio tyrimui reiktų vengti plaukų folikulų patekimo kartu su plaukais [20].



2 pav. Kortizolio patekimas į plauką. Kortizolis gali patekti į plauko struktūrą per kraujotakos sistemą pasyvios difuzijos būdu (A), per prakaito (B) ir /arba riebalų (C) liaukas, taip pat veikiant išoriniams šaltiniams (D). Taip pat kortizolis gali būti sintetinamas plauko folikule (E) ir taip padidėti jo koncentracija plauke [61].

Nustatyta, kad iš 3 cm plaukų galima nustatyti kortizolio likučius, susidariusius per 3 paskutinius mėnesius [28; 44]. Tačiau kortizolio kiekį plaukuose veikia „išplovimo faktorius“, kuris pasireiškia labiausiai nutolusiose nuo skalpo plaukų atkarpose. Kortizolis palaipsniui išsisklaido dėl keletos kortizolio kiekį keičiančių veiksnių, tokių kaip cheminių medžiagų, esančių šampūnuose, dažuose, ilgalaikės šukuosenos, cheminio sušukavimo ar tiesinimo priemonėse, medžiagų, esančių plaukų geliuose, lakuose, vaškuose, dėl saulės poveikio, karščio [12; 19]. Tai patvirtina ir kai kurių autorių gauti rezultatai. Jie parodė, kad dažytuose [55], balintuose, po cheminio sušukavimo/tiesinimo plaukuose buvo mažesnė kortizolio koncentracija, lyginat su natūraliais chemijos ir karščio nepaveiktais plaukais [36]. Tačiau panašius tyrimus atlikę Y. Dowlati [14] ir J. Karlén [28] kartu su kolegomis šio požymio nepastebėjo.

Eksperimentų su skirtingo ilgio plaukais rezultatai rodo, kad kortizolio tyrimams geriausiai naudoti 1-3 cm ilgio plaukus, kirptus nuo skalpo, taip išvengiant hormono „išplovimo“ faktoriaus laike. Tai geriausiai atspindi ilgalaikį padidėjusį PHA ašies aktyvumą [12; 68]. Kirschbaum C. su kolegomis [30] rekomenduoja tyrimams naudoti pirmus du segmentus po 3 cm nuo skalpo, taip atspindint paskutinių šešių mėnesių laikotarpį. Todėl yra galimybė nagrinėti ryšį tarp kortizolio kaip ilgalaikio streso biomarkerio ir subjektyvių streso

rodiklių įvairiuose mėginiuose. Šių ryšių atradimas ir supratimas padeda suprasti lėtinio streso kompleksinį poveikį fizinei ir psichinei sveikatai [44].

Plaukų kortizolio kiekis teikia informaciją apie PHA ašies aktyvumą, bet ne apie dinamiką ir funkciją, kadangi parodo tik per tam tikrą laiko tarpą „sukauptą“ kortizolio koncentraciją, bet ne jos svyravimus. Dėl tos pačios priežasties, plaukų kortizolis negali būti naudojamas kaip biožymuo ūmaus streso vertinime [19].

J. Karlen ir kolegų [28] tyrimų rezultatai parodė, kad dalyvių, kurie PSS (suvokiamo streso skalė) teste turėjo mažesnę rezultatą, jų plaukuose rasta reikšmingai didesnis kiekis kortizolio ($p=0,025$, $r= -0,061$). Buvo tirta medicinos ir slaugos antro semestro 99 studentai. Jie užpildė klausimynus apie įvykusius rimtus gyvenimo įvykius, apie suvokiamą sveikatos būklę, ir subjektyviai suvokiamą stresą (PSS), vertinamą 5 balų skalėje, per pastaruosius tris mėnesius. Taip pat registruota lytis, amžius, plaukų būklė (dažyti, tiesinti ir pan.) ir paskutinių 3 mėnesių laikotarpyje vartoti vaistai. Asmenys, kurie nurodė rimtus gyvenimo įvykius, nutikusius per 3 paskutinius mėnesius, turėjo padidėjusį kortizolio kiekį lyginant su dalyviais, neminėjusiais rimtų gyvenimo įvykių. Tyrėjai padarė išvadą, kad rimti gyvenimo įvykiai labiau koreliuoja su padidėjusia kortizolio koncentracija nei PSS testas. Keletas dalyvių, turėję ypač didelę kortizolio koncentraciją, nurodė, kad per paskutinius 3 mėnesius turėjo ypač rimtų psichologinių problemų (kaip nervinę anoreksiją, generalizuotą nerimo sutrikimą su panikos priepuoliais) [28]. Autoriai padarė išvadą, kad plaukų kortizolio koncentraciją galima naudoti kaip biožymenį ne vien lėtinio streso nustatymui, bet ir psichologinių ligų diagnozavimui bei stebėjimui. Tačiau reikia atkreipti dėmesį į tai, kad kiekvienas skirtingai suvokia kas yra „rimtas gyvenimo įvykis“, o teste į klausimą buvo atsakoma „Taip/Ne“, be to visi skirtingai reaguojame ir priimame rimtus gyvenimo įvykius tiek psichologiškai, tiek fiziologiškai. Autoriai siūlo šį testą koreguoti į detalesnius atsakymus: kokie tai įvykiai, jų tipai, ar sukelia fizines, psichologines traumas. Taip pat siūlo išsiaiškinti apie dalyvių galimas antinksčių ligas, kurios gali įtakoti kortizolio kiekį organizme [28].

1.5.4.2. Kortizolio nustatymo plaukuose metodai

Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymui taikomi įvairūs metodai: imunofermentinis metodas (ELISA) ar supaprastinta imunofermentinė analizė (EIA), radioimuninė analizė (RIA), chemiliuminiscentinė imunoanalizė (CLIA), efektyvioji skysčių chromatografija – masių spektrometrija (HPLC-MS) ar skysčių chromatografija – masių spektrometrija (LC-MS/MS). R. Gow R. su kolegomis [20] kaip geriausią metodą įvardija

masių spektrometriją. Tačiau tai labai brangus metodas. Daugiausiai galima rasti tyrimų, atliktų su ELISA metodologija [20; 23], taip pat nemažai tyrimų atlikta su CLIA ir LC-MS/MS [23]. Pasak R. Gow R. ir bendraautorių [20], ELISA daug potencialo turintis metodas, atsižvelgiant į jo jautrumą, greitumą, kainą. M. Gerber su kolegomis [19] padaryta apžvalga rodo, kad ELISA metodo variacijos koeficientas mažesnis 10% ir yra panašus su HPLC/MS. Pasak J. Milam ir kolegų [41], CLIA metodu gautų rezultatų, tiriant plaukų kortizolį, variacijos koeficientas siekia 8% ir stipriai koreliuoja su LC-MS/MS rezultatais ($r^2=0,96$). Tačiau reikia atkreipti dėmesį, kad CLIA metodu nustatyta kortizolio koncentracija yra 15% didesnė už LC-MS/MS rezultatus. Mokslininkai atliko paralelinius tyrimus su tais pačiais 15-iolika plaukų mėginių keturiose skirtingose laboratorijose. Kortizolio nustatymui naudotos dvi skirtingos metodikos, skirtos LC-MS/MS analizei. Gauti praktiškai identiški rezultatai, kurie stipriai koreliavo su imuninės analizės, atliktos pagal keturis skirtingus protokolus, rezultatais (r_s tarp 0,80 ir 0,97; $ps<0,0001$) [54]. Taigi imuninės analizės metodai tinkami naudoti kaip alternatyva LC-MS/MS metodams.

Mėginio paėmimas

Nustatyta, kad kortizolio kiekis plaukuose nepriklauso nuo plaukų spalvos, lyties [30; 51; 62]. B. Sauvé su bendraautoriais [55] atliktame tyrime nustatė, kad kortizolio koncentracija sumažėja, kai plaukai prieš imant bandinį nudažomi. Plaukai paimami ties viršugalvio užpakaline dalimi, pakaušiu [28; 55] ir kerpami prie pat skalpo, ėminyje negali būti išrautų plaukų [20]. Pasak R. Gow ir kolegų [20], ties minėtąja vieta kirpti plaukai duoda geriausius rezultatus tiriant kortizolio koncentraciją plaukuose. Šiuo atveju variacijos koeficientas siekia 15,6%. Kitose galvos vietose – 30,5%.

Plaukų plovimo etapas

Plaukų kortizolio išskyrimą analizavę mokslininkai savo protokoluose nurodo vieną [17; 43; 49] ar du [8; 18] plovimo etapus po 2-3 min. Šis etapas naudojamas norint išvengti išorinio užterštumo nuo plaukų priežiūros priemonių, prakaito, kūno išskiriamų riebalų, kitų paviršinių medžiagų (pvz. odos ląstelių, galvos utelių). Taip pat plaunant plaukus norima išvengti galimo užteršimo ne per kraują plintančiais steroidais, dengiančiais išorinį plaukų paviršių [16]. Pasak J. Karlen ir bendraautorių [28], plaukų plovimo su solventu stadija nereikalinga, kadangi išplaunami net labai maži hormono kiekiai. Taip pat ir J. Yamada su bendraautoriais [71] atlikto tyrimo išvados rodo, kad šiame etape yra išplovimo efektas.

Vandeniniai tirpalai ar metanolis išpūčia plauko struktūrą ir atsiranda galimybė prarasti dalį kortizolio plaukuose, todėl geriau naudoti organinius mažo poliškumo tirpiklius [16]. M. D. Davenport su kolegomis [11] tyrė kaip plaukų plovimas metanoliu ir izopropanoliu veikia kortizolio kiekį juose. Tyrimus atliko su rezusų (*Macaca mulatta*) plaukais, kuriuos plovė 1-3 kartus. Rezultatai parodė, kad mažiausiai iš plaukų išplaunamas kortizolis ir efektyviausiai nuplaunamas išorės kortizolis, naudojant izopropanolį ir plaunant du kartus po 3 min. Dauguma autorių savo protokoluose nurodo plovimui naudoję izopropanolį [10-11; 16; 23], dalis - metanolį [18], metileno chloridą [51; 68], keletas jų praleido šį etapą [23] (1 lentelė).

Tiriamosios medžiagos smulkinimas ir naudojamas kiekis analizei

Analizei naudojamas plaukų kiekis varijuoja labai įvairiai, nuo 5 iki 100 mg [28; 49; 51]. Plaukai susmulkinami chirurginėmis žirkklėmis [49; 68], specialiu malūnėliu [8; 51] arba naudojamas visas pasirinktas plauko ilgis [17; 43] (1 lentelė). M. D. Davenport su kolegomis [11] nustatė, kad plaukų susmulkinimas iki miltelių malūnėliu duoda 3,5 karto geresnius rezultatus. Žirkklėmis susmulkintų plaukų kortizolio rezultatų variacijos koeficientas siekė 24%, tuo tarpu plaukų milteliuose kortizolio CV=6,5%. T. Stadler ir kolegų [63] atlikti tyrimai neparodė kortizolio kiekio priklausomybės nuo pasirinkto plaukų smulkinimo tipo. Reikia atkreipti dėmesį, kad plaukų smulkinimo malūnėliu ar žirkklėmis metu prarandama dalis mėginio lyginant su nesmulkintais plaukais [16].

Kortizolio ekstrakcija iš plaukų

Kortizolio ekstrakcijai įvairūs autoriai naudoja skirtingus reagentus (1 lentelė). Dauguma naudojo metanolį ir inkubavo 16 val 50-52°C [17; 23; 28; 36; 43; 49; 67-68], J.-S. Raul su kolegomis [51] naudojo Soerenseno buferį [8], kurio pH 7.6, HCl 0.1N, NaOH 0.1N ir inkubavo 40°C temperatūroje, kai kurie autoriai inkubacinį laiką prailgino iki 24 valandų [35; 68] (1 lentelė). Metanolis iš visų šių minėtų ekstrakcijai naudojamų medžiagų laikomas geriausiu, kadangi gali ištirpinti neutralius, hidrofilinius ar vidutiniškai lipofilinius junginius. Metanolis dėl savo hidrofilinių savybių nesunkiai prasiskverbia į plauko ląsteles ir išpūčia matricą, atsiranda tarpai ir tai leidžia kortizolio molekulėms lengvai pasišalinti iš plauko. Metanolio trūkumas: ekstraktas nėra grynas, reikia vykdyti gryninimo procedūras (pvz. skysčių/skysčių ar kietafazę ekstrakciją). Vandeninės rūgštys ir buferiniai tirpalai sudaro grynesnius ekstraktus nei metanolis, bet jie gali sukelti hidrolizę ir analitės skilimą, praradimą [16].

1 lentelė. Plaukų kortizolio tyrimų metodinė straipsnių apžvalga.

Straipsniai	Naudotas plaukų ilgis, cm	Naudotas mėginio kiekis, mg	Plovimas	Smulkinimo tipas	Inkubacijos reagentas	Inkubacijos laikas, val	Inkubacijos temperatūra	Metodas
Citrimele V. et al., 2000 [8]	100mg	50	Metileno chloridas	Malimas	Soerenseno buferis, pH 7,6	16	40°C	HPLC-MS/MS
Andrade E. H. et al., 2016 [3]	3 (išskaidyti po 1cm į A, B ir C segmentus)	10	?	Malimas	Metanolis	16	52°C	ELISA
Noppe G. et al., 2015 [43]	3 (3 po 1 cm segmentą)	10-30	Izopropanolis	Nesmulkinti	Metanolis	18	25°C	LC-MS/MS
Davenport M. D. et al., 2006 [11]	13, 14, 35 savaičių po skutimo	50	Metanolis, izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	kambario temp.	EIA
Quinete N. et al. 2015 [49]	3	50	Izopropanolis	Karpymas	Metanolis	24	kambario temp.	LC-MS
Raul J.S. et al., 2004 [51]	2	30-100	Metileno chloridas	Malimas	Soerenseno buferis, NaOH 0,1N; HCl 0,1N	16	40°C	HPLC/MS
Vanaelst B. et al., 2013 [68]	6	50	DCM	Karpymas	Metanolis	24	?	UPLC-MS/MS
Yu C. et al., 2015 [72]	?	20	Metanolis	Karpymas	Metanolis	24	25°C	LC-APCI-MS/MS
Karlen J. et al., 2011 [28]	3	5-17	?	Malimas	Metanolis	10	kambario temp.	RIA
Van Uum S. et al., 2008 [67]	2	?	-	Karpymas	Metanolis	16	50°-52°C	ELISA
Manenschijn L. et al., 2011 [36]	18 (3 cm prie skalpo ir po to 5 segmentai po 3 cm)	Mažiausiai 10	?	Karpymas	Metanolis	16	52°C	ELISA
Manenschijn L. et al., 2013 [37]	3	Mažiausiai 15	?	Karpymas	Metanolis	16	52°C	ELISA
Gao W. et al., 2010 [18]	3	50	metanolis	Malimas	Soerenseno buferis, NaOH 0,1N; HCl 0,1N	16	40°C	HPLC-FLU
O'Brien K. M. et al., 2013 [44]	3	10.8-71.3	izopropanolis	Malimas	Metanolis	?	?	EIA
Dettenborn L. et al., 2012 [14]	3 (3 segmentai po 3 cm)	25 ir 10	izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	?	CLIA

1 lentelės tęsinys. Plaukų kortizolio tyrimų metodinė straipsnių apžvalga.

Straipsniai	Naudotas plaukų ilgis, cm	Naudotas mėginio kiekis, mg	Plovimas	Smulkinimo tipas	Inkubacijos reagentas	Inkubacijos laikas, val	Inkubacijos temperatūra	Metodas
Dettenborn L. et al., 2010 [12]	3 (2 segmentai po 3 cm)	25	izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	?	CLIA
Kirschbaum C. et al., 2009 [30]	3	50	izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	?	CLIA ir LC-MS/MS
Kalra S. et al., 2007 [27]	1-1.5	Mažiausiai 10	?	Karpymas	Metanolis	Per naktį	50°C	ELISA
Stadler T. et al., 2013 [61]	3	10	izopropanolis	Nesmulkinti	Metanolis	18	kambario temp.	HPLC-MS/MS
Luo H. et al., 2012 [35]	12 (4 segmentai po 3 cm)	?	izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	?	ECLIA
Dowlati Y. et al., 2010 [14]	3	20	-	Karpymas	Metanolis	16	52°C	ELISA
Stadler T. et al., 2012 [64]	I: 2 II:6 (2 segmentai po 3 cm)	10	?	Nesmulkinti	Metanolis	18	45°C	CLIA
Qi X. et al., 2014 [48]	1	20	metanolis	Karpymas	Metanolis	48	25°C	LC-MS/MS
Skoluda N. et al., 2012 [58]	9 (3 segmentai po 3 cm)	25	izopropanolis	Malimas	Metanolis	45 min	?	CLIA
Sauve et al., 2007 [55]	?	10	?	Karpymas	Metanolis	16	52°C	ELISA
Stalder T. et al., 2011 [63]	I: 3	I:25	?	I: Malimas	Metanolis	18	45°C	CLIA
	II:2	II:10		II:Nesmulkinti				
Grass J. et al., 2015 [21]	2	7,5	izopropanolis	?	Metanolis	18	kambario temp.	HPLC-MS/MS
D'Anna-Hernandez K. L. et al., 2011 [9]	1	50	izopropanolis	Malimas	Metanolis	24	kambario temp.	EIA
Gao W. et al., 2013 [17]	3	20	izopropanolis	Nesmulkinti	Metanolis	18	kambario temp.	LC-MS/MS
Yamada J. et al., 2007 [71]	3	10-50	-	Karpymas	Metanolis	16	52°C	ELISA

Analizės metodai

Imuninės analizės technologijos tinkamos plaukų kortizolio kiekybiniam nustatymui. Tačiau šie komerciniai rinkiniai nėra specialiai sukurti plaukų mėginiams tirti ir gali susidaryti kryžminės reakcijos tarp rinkinio antikūnų ir egzogeninių gliukokortikoidų ar endogeninių kortizolio metabolitų [68], lipidų, plaukų dalių. Todėl svarbus plaukų plovimo etapas [16]. Atliekant kortizolio tyrimus seilėse imuninės analizės metodu nustatyta, kad kortizonas dėl savo panašių savybių su kortizoliu, gali nesunkiai kryžmiškai reaguoti su rinkinio antikūnais [42; 68]. Imuninių metodų specifiškumas gali būti žemas, nors jautrumas geras [30]. Todėl gali būti pervertinamas tikrasis kortizolio kiekis plaukuose. Taip pat šis metodas netinkamas mažų koncentracijų nustatymui (pvz. plaukuose), dėl žemo specifiškumo ir prasto metodo optimizavimo galimybių, esant didelės koncentracijos intervalui [16]. Tačiau W. F. Albar su bendraautoriais [1] atliko ELISA rinkinių, skirtų seilių kortizolio tyrimams, bet pritaiktų plaukų kortizoliui tirti, apžvalgą. Joje matoma, kad nepriklausomai nuo rinkinio gamintojo, visuose rinkiniuose kortizolis 100% kryžmiškai reagavo su antikūnais, lyginant su kitais steroidais [1]. Imuninės analizės trūkumas, kad tiriant tame pačiame mėginyje keletą analizių, reikia skirtingų rinkinių [16].

Pastebėta žymi koreliacija tarp plaukų kortizolio koncentracijos, išmatuotos imuninės analizės metodu ir skysčių chromatografijos tandemo masių spektrometrijos (LC-MS/MS) kaip atskaitos metodu. Tačiau buvo nustatyta, kad imuninės analizės metodai gali padidinti kortizolio koncentraciją 15% palyginti su LC-MS/MS [30; 68]. Todėl LC-MS/MS metodas leidžia tiksliau nustatyti kortizolio koncentraciją, esant net mažam mėginio kiekiui. B. Vanaelst ir kolegų [68] atlikti tyrimai parodė, kad tiriant kortizolio kiekį plaukuose, itin aukšto slėgio skysčių chromatografijos – masių spektrometrijos metodas (UPLC-MS/MS) pasižymi dideliu tikslumu, jautrumu, geru metodo linijiškumu bei paprasta ir nebrangia ekstrakcijos procedūra. Šio metodo atitikmuo gali būti didelio efektyvumo skysčių chromatografijos su fluorescenciniu detektoriumi metodas (HPLC-FLU) [18]. HPLC-FLU, dujų chromatografijos – masių spektrometrijos (GS-MS) metodų trūkumas, kad tyrimui atlikti reikia didesnio kiekio mėginio, lyginant su imunine analize. Dujų chromatografijai reikia dar didesnio plaukų kiekio nei skysčių (atitinkamai 200 mg ir 5-100 mg). Taip pat sudėtingesnis ir ilgiau trunkantis pirminis mėginio paruošimas. Skysčių chromatografija – masių spektrometrija (LC-MS), be savo didelio jautrumo ir specifiškumo, yra geresnis metodas už imuninę analizę ir HPLC-FLU, nes vienu metu galima tirti keletą skirtingų

junginių. Taip pat, lyginant su dujų chromatografija, nereikalingas sudėtingas ir daug laiko užimantis mėginio paruošimas, derivatizacija. LC-MS labai tinka atliekant rutinos, didelio našumo analizę [16].

1.5.4.3. Plaukų kaip tyrimo matricos privalumai

Plaukų tyrimas yra neinvazinis, neskausmingas. Reikalingas nedidelis mėginio kiekis, pakanka vos 10 mg plaukų [61]. Mėginio paėmimo procedūra pakankamai paprasta, ją gali atlikti žmonės ir be specialaus išsilavinimo. Palankios laikymo sąlygos: pakanka kambario temperatūros, mėginiai gali būti ilgai laikomi, paprastas transportavimas (tinka ir paprastame voke siųsti paštu) [20; 61]. Kortizolio koncentracija nepriklauso nuo natūralios plaukų spalvos [51], vartojamų kontraceptikų, rūkymo ir jo įpročių [19] bei neveikia įvairios situacijos (pvz. neseniai patirta stresinė situacija, kraujo ėmimo procedūra ir kt.) [61]. Taip pat plaukuose nustatyti hormono kiekiai parodo jų koncentracijos pokytį organizme kelių mėnesių laikotarpyje [61-62].

Ilgalaikio kortizolio kiekio pakitimo nustatymui seilėse, kraujo plazmoje, šlapime reikalingas periodiškasis tiriamosios medžiagos paėmimas ir tyrimas tam tikrą laikotarpį. Tai užima daugiau laiko, sunaudoja daugiau priemonių bei neigiamai gali veikti tyrimo dalyvį (pvz. dažnai imamas kraujo mėginys). Tuo tarpu kortizolio tyrimas plaukuose apima tą patį tiriamąjį laikotarpį, mėginį paimant vieną kartą [61].

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

2.1. Tyrimo medžiaga.

2.1.1. Tiriamoji grupė

Tiriamieji buvo atrinkti pagal Lietuvos mokslų tarybos finansuojamo projekto „Lėtinio streso nulemti aterosklerozės proceso ypatumai: naujų biožymenų paieška ir tyrimas“ kriterijus Vilniaus universitetinės ligoninės „Santariškių klinikos“ Šeimos centre iš sveikų 25 - 55 metų amžiaus vyrų, atvykusių vizitui pas šeimos gydytoją dėl kitų priežasčių. Šiems pacientams buvo pristatytas vykdomas tyrimas. Dalyviams išmatuotas svoris, ūgis, liemens apimtis, arterinis kraujo spaudimas (AKS), širdies susitraukimų dažnis (ŠSD), paskaičiuotas kūno masės indeksas (KMI). Tiriamiesiems nukirptas pluoštas plaukų nuo viršugalvio užpakalinės dalies ir tyrimui panaudoti pirmieji 3 cm nuo skalpo. Dalyviai namuose turėjo užpildyti psichosocialinio streso vertinimo anketą streso lygio įvertinimui (1 priedas) ir kitos dienos rytą tik nubudę paimti seilių mėginį.

2.1.2. Tiriamosios medžiagos surinkimas

Paimtas 3-5 mm (apie pusės pieštuko diametro skersmens) pločio kuokštelis plaukų ties viršugalvio užpakaline dalimi ir surištas virvele keliais cm aukščiau skalpo, kad neišsisklaidytų plaukai bei žinotume, kuriame kuokštelio gale yra prie skalpo esanti plaukų dalis. Kirpta prie pat skalpo (svarbiausi 3 cm nuo plauko svogūnėlio). Svarbu, kad kerpanč nepasitaikytų plaukų svogūnėlių, nes jie gali iškreipti rezultatus. Plaukų kuokštelis suvyniotas į aliuminio foliją ir įdetas į voką su identifikaciniu numeriu. Mėginys laikytas kambario temperatūroje.

Seilės buvo renkamos į specialius mėgintuvėlius SalivaBio (Salimetrics, JAV), tik nubudus ir dar neatsikėlus iš lovos. Specialus vatos tamponas buvo laikomas po liežuviu 20 sekundžių, įdedamas į mėgintuvėlį ir pristatomas į laboratoriją. Laboratorijoje mėgintuvėlis su seilių tamponu buvo centrifuguojamas 15 min. 1800 g. Seilių mėginiai iš karto po paruošimo buvo užšaldyti ir laikomi – 80°C.

2.2. Psichosocialinis testas streso lygiui nustatyti

Naudotas psichosocialinis klausimynas, parengtas ir validuotas LiVicordia projekte (1 priedas) [31]. Klausimynas yra sudarytas iš žemiau išvardintų dalių su vertinimo skale.

Darbo aplinka:

- psichologiniai poreikiai (5-20 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės rodo mažesnę psichologinių poreikių patenkinimą.
- sprendimų priėmimo galimybės (kontrolė) (6-24 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės rodo didesnes sprendimų priėmimo galimybes.
- įtampa darbe (galimi rezultatai: 0,2-3,3). Taškai skaičiuojami: psichologiniai poreikiai padalinta iš sprendimų priėmimo galimybės. Mažėjančią įtampą darbe rodo reikšmės, artėjančios prie 0,2.

Socialinė parama:

- socialinė parama darbe (8-32 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės – stipresnė socialinė parama darbe.
- emocinė parama (0-6 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės – tiriamasis stipresnę emocinę paramą jaučia.
- socialinė integracija (6-36 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės rodo geresnę socialinę integraciją.

Asmenybė:

- gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais (7-28 galimų taškų). Didesnis rezultatas - geresni gebėjimai.
- savigarba (10-40 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnę savigarbą.
- vidinė darna (13-91 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo didesnę vidinę darną.
- priešiškus (48-192 galimų taškų). Kuo mažesnis taškų skaičius, tuo didesnis priešiškus.
- imersija (įsitraukimas) (29-116 galimų taškų). Didesnė taškų suma - stipresnė imersija.
- išsekimas (19-57 taškų). Didesnės taškų reikšmės rodo stipresnę išsekimą.

Depresija (0-39 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo didesnę depresijos riziką.

2.3. Įrenginiai ir piemonės

- Kietafazės ekstrakcijos kolonėlė SPE C18 500 mg/6 ml („Biotage“, Švedija)
- pH-metras pH320 (jonometras) („WTW“, Vokietija)
- UFLC-MS/MS SIL-30AC („Shimadzu“, Japonija)
- Analizinės svarstyklės SBC 31, d=0,0001 g („Scaltec“, JAV)

- Termo purtyklė TS-100 („Biosan“, Latvija)
- Vorteksas („Liap“, Latvija)
- Distiliatorius PURELAB flex 3 („Elga“, Jungtinė Karalystė)
- Vakuminė sistema – siurblys Labopart („KNF lab“, JAV)
- Šaldymo sistema su skystu azotu Thermolyne dri-bath („Cole Parmer“, JAV)
- Centrifūga epindorfams Velocity 13 μ minifuge („Dynamica Scientific“, Jungtinė Karalystė)
- Pilnai automatizuotas analizatorius ELISA metodui Stratec Gemini (“Stratec biomedical”, Vokietija)
- Kolonėlė Lichrosorb RP-18 5u (“Alltech”, JAV)

2.4. Reagentai

- Antro lygio distiliuotas vanduo (dejonizuotas) (distiliatorius)
- Etanolis (96,3%) („Vilniaus degtinė“, Lietuva)
- Izopropanolis („Riedel-de Haën“, Vokietija)
- Metanolis („Sigma-Aldrich“, Vokietija)
- Skystas azotas
- Sieros rūgštis („Lachema“, Čekija)
- Acetonas („Penta“, JAV)
- Heksanas („Merck“, Vokietija)
- Amonio acetatas (“Fluka analytical”, Vokietija)
- Fluoresceinas (“Fluka analytical”, Vokietija)
- Acto rūgštis („Riedel-de Haën“, Vokietija)
- Hydrocortisone („Sigma-Aldrich“, Vokietija)
- Cortisol Saliva ELISA rinkinys („IBL International“, Vokietija)
- PBS tirpalas (phosphate buffered saline solution) („Sigma-Aldrich“, Vokietija)

Reikalingi pasiruošti tirpalai:

- judri fazė: metanolis skiestas vandeniui, santykis 60:40, į kurį įdėta 0,5 g/100 mL amonio acetato ir pH priverstas su acto rūgštimi iki 5,0.
- acetono/dejonizuoto vandens tirpalas (santykiu 2:8)
- sieros rūgštis/etanolis (santykiu 70:30)
- 1 μ g/mL fluoresceino tirpalas ruoštas etanolyje.
- 2, 10, 20, 50, 100 ir 200 ng/mL kortizolio standartai, ruošti metanolyje.

2.5. Plaukų kortizolio tyrimas HPLC-FLU chromatografijos metodu

2.5.1. Ekstrakto paruošimas

Kortizolio ekstrakcijos iš plaukų metodas parengtas pagal Gao W. su bendraautoriais [18] publikaciją su nedidelėmis modifikacijomis: buvo keisti plovimo ir ekstrakcijos reagentai.

1. 100 mg plaukų plaunama 5 mL izopropanoliu, maišoma 3 min kambario temperatūroje. Nupilama, išsausinama skysto azoto srove. Procedūra pakartojama 2 kartus.
2. Plaukai susmulkinami žirkklėmis į mažus gabaliukus (apie 1-2 mm dydžio).
3. 25 mg susmulkintų plaukų sumaišomi su 1 mL metanolio, vykdoma 20 valandų inkubacija 40°C temperatūroje.
4. Po inkubacijos centrifuguojama 12000 r/min 10 min, supernatantas nupilamas į kitą mėgintuvėlį.
5. Ekstraktas (supernatantas) sausai išgarinamas su skysto azoto srove.
6. Gautas sausas ekstraktas inkubuojamas 2 min su 50 µL sieros rugštimi/etanoliu (santykis 70:30) 70°C temperatūroje.
7. Įpylama 500 µL dejonizuoto vandens ir atšaldoma lede 10 min.
8. Įdedama 50 µL 1 µg/mL fluoresceino tirpalo.

2.5.2. Kietafazė ekstrakcija

1. Aktyvuojama SPE C18 kolonėlė su 3ml metanolio, nuplaunama 3ml dejonizuotu vandeniu.
2. Ekstraktas perkeliamas į SPE C18 kolonėlę, laukiama kol nusės.
3. Kolonėlė skalaujama 1 mL acetono/dejonizuoto vandens tirpalu (santykis 2:8), tada 1 mL dejonizuotu vandeniu ir 1 mL heksanu. Džiovinama 30 min. Ištekėjusi dalis išpylama.
4. Kolonėlė praplaunama 3 kartus su 0,5 mL metanolio. Praplaunamąją dalį (eliuatą) surinkti į mėgintuvėlį, naudoti sekančiuose etapuose.
5. Eliuatas galutinai išgarinamas azoto srove, sausas likutis suspenduojamas su 50 µL metanolio. Naudojama HPLC analizei.

2.5.3. HPLC-FLU chromatografijos sąlygos

Detektorius RF-20AXS-C, siurblys – LC-30AD, automatinis dozatorius. Kolonėlė Lichrosorb RP-18 5u 250 mm x 4,6 mm. SN:02101388.1, pH intervalas 2,0-7,5. Kalibracinei kreivei nustatyti naudoti kortizolio standartai: 2, 10, 20, 50, 100 ir 200

ng/ml. Įleidžiamo mėginio tūris – 10 µL. Analizės trukmė – 30 min. Kolonėlės temperatūra – 30 °C. Bangos ilgis: ekstinkcija – 360 nm, emisija – 480 nm. Judri fazė: metanolis skiestas vandeniui, santykis 60:40, į kurį įdėta 0,5 g/100mL amonio acetato ir pH priverstas su acto rūgštimi iki 5,0. Judrios fazės tėkmės greitis – 5,0 µL/min.

2.6. Plaukų ir seilių kortizolio tyrimas su Cortisol Saliva ELISA rinkiniu

ELISA metodo metu kortizolio koncentracija nustatoma mikroplokštelių spektrofotometru bangos ilgiui esant 450 nm. Absorbicija yra atvirkščiai proporcinga kortizolio koncentracijai mėginyje.

Metodo specifikacija:

- kalibracinis intervalas: 0,015-3,000 µg/dL arba 1,5-300,0 µg/mL
- aptikimo riba – 0,003 µg/dL, funkcinis jautrumas – 0,005 µg/dL
- šviesos bangos ilgis - 450 nm
- standartai: 0; 0,15; 0,4; 1,7; 7,0; 30 ng/mL
- didelės ir mažos koncentracijos kortizolio kontrolės

Plaukų kortizolio ekstrakto paruošimas

1. 100 mg plaukų plaunama 5 mL izopropanoliu, maišoma 3 min kambario temperatūroje. Nupilama, išsausinama skysto azoto srove. Procedūra pakartojama 2 kartus.
2. Plaukai susmulkinami žirkklėmis į mažus gabaliukus (apie 1-2 mm dydžio).
3. 25-26 mg susmulkintų plaukų sumaišomi su 1 mL metanolio, vykdoma 20 valandų inkubacija 40°C temperatūroje.
4. Po inkubacijos centrifuguojama 12000 r/min 10 min, supernatantas nupilamas į kitą mėgintuvėlį.
5. Ekstraktas (supernatantas) sausai išgarinamas su skysto azoto srove.
6. Gautas sausas ekstraktas ištirpinamas su 200 µL fosfato buferiniu druskos tirpalu (angl. PBS – phosphate buffered saline). Tyrimui naudojama 50 µL ekstrakto.

Toliau tyrimas atliktas naudojantis ELISA metodui skirtu IBL International firmos rinkiniu pagal gamintojo protokolą.

Kortizolio koncentracija seilėse nustatyta naudojantis ELISA metodui skirtu IBL International firmos rinkiniu pagal gamintojo protokolą.

Apskaičiuotų standartinių tirpalų reikšmių priklausomybė nuo kortizolio koncentracijos ng/mL pavaizduojama grafiškai pusiau logaritminėje koordinačių

sistemoje. Naudojantis kalibracine kreive pagal kiekvieno mėginio ekstinkciją galima sužinoti kortizolio koncentraciją ng/ml. Duomenis apdoroja pilnai automatizuoto analizatoriaus "Stratec Gemini" sistema. Plaukų kortizolio koncentracija iš ng/mL perskaičiuota į pg/mg pagal šią formulę:

$$C_k = \frac{C_p V}{m_p}$$

C_k – kortizolio koncentracija (ng/mg)

C_p – pradinė kortizolio koncentracija, gauta ELISA metodu (ng/mL)

V – ekstrakto tūris (L)

m_p – pradinis mėginio kiekis, naudotas ekstrakcijai (mg)

Plaukų kortizolio ir seilių kortizolio koncentracijos atitinkamai perskaičiuotos į pg/mg ir pg/mL, prieš tai jų koncentracijas padauginus iš 1000.

2.7. Statistinė analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant Microsoft office Excell 2010 ir IBM SPSS (V.23) programine įranga. Kiekybiniais parametriniams duomenims apibūdinti naudojamas aritmetinis vidurkis ir standartinis nuokrypis (SD). Neparametriniai kiekybiniai duomenys apibūdinami mediana ir minimalia bei maksimalia reikšmėmis. Kokybiniai duomenys aprašomi absoliučiu skaičiumi ir procentine dalimi. Ryšiams tarp kiekybinių kintamųjų nustatyti naudojamas Spearman'o koreliacijos koeficientas. Palyginimui tarp grupių naudotas t kriterijus. Rezultatai vertinti kaip statistiškai reikšmingi, jei $p \leq 0,05$.

3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Tiriamosios grupės apibūdinimas

Tyrime dalyvavo 38 vyrai, kurių amžiaus vidurkis $34,45 \pm 7,8$ metai. Dalyvių KMI vidurkis buvo $24,25 \pm 3,08$, o 10 tiriamųjų turėjo antsvorį (KMI $>25,0$) ir dviems pacientams nustatytas nutukimas (KMI $>30,0$). Tiriamųjų liemens apimties vidurkis buvo $85,3 \pm 8,42$ cm, tik vienam tiriamajam buvo nustatytas pilvinis nutukimas, t.y. liemens apimtis buvo virš >102 cm. Daugiau nei pusė tiriamųjų turėjo didesnę nei 130 mmHg arterinį sistolinį kraujospūdį (60,53%), o diastolinis kraujospūdis > 80 mmHg buvo padidintas 36,84% pacientų (2 lentelė). Arterinė hipertenzija (sistolinis AKS >130 arba diastolinis AKS > 85 mmHg) buvo nustatyta 71,05% tiriamųjų.

2 lentelė. Bendrieji tiriamųjų duomenys.

	Vidurkis	SD	Intervalas
Amžius	34,45	7,8	25-55
Ūgis (m)	1,84	0,064	1,71-1,985
Svoris (kg)	82,34	10,82	64,2-105,4
KMI (kg/m^2)	24,25	3,08	19,88-35,01
Liemens apimtis (cm)	85,3	8,42	70-104
AKS:			
Sistolinis	133	9,5	116-160
Distolinis	84	7,52	68-103
ŠSD	70,5	11,53	48-99

Pastaba: KMI – kūno masės indeksas, AKS – arterinis kraujo spaudimas, ŠSD – širdies susitraukimų dažnis.

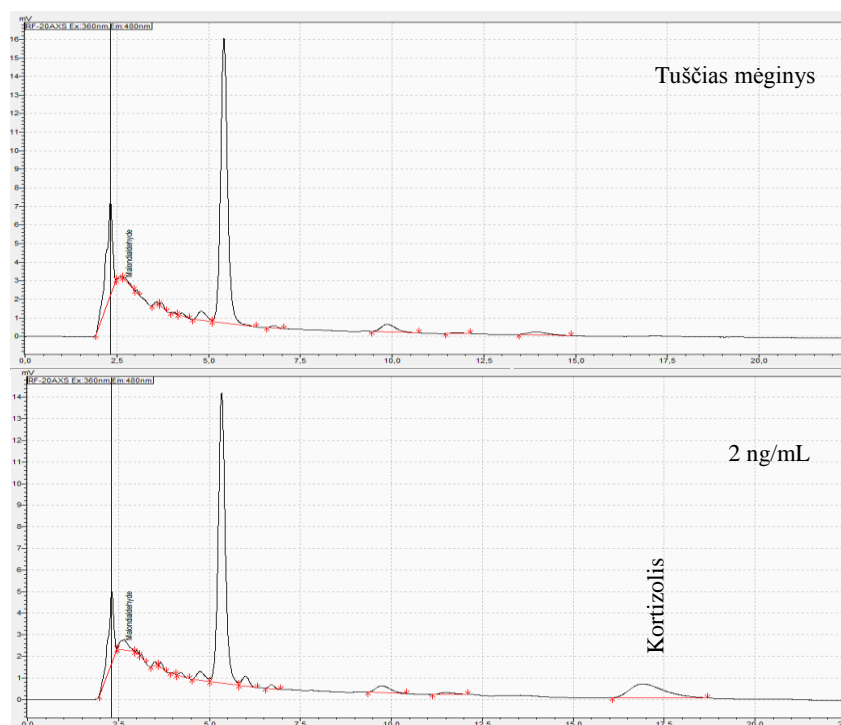
3.2. Kortizolio ekstrakcijos iš plaukų sąlygų parinkimas

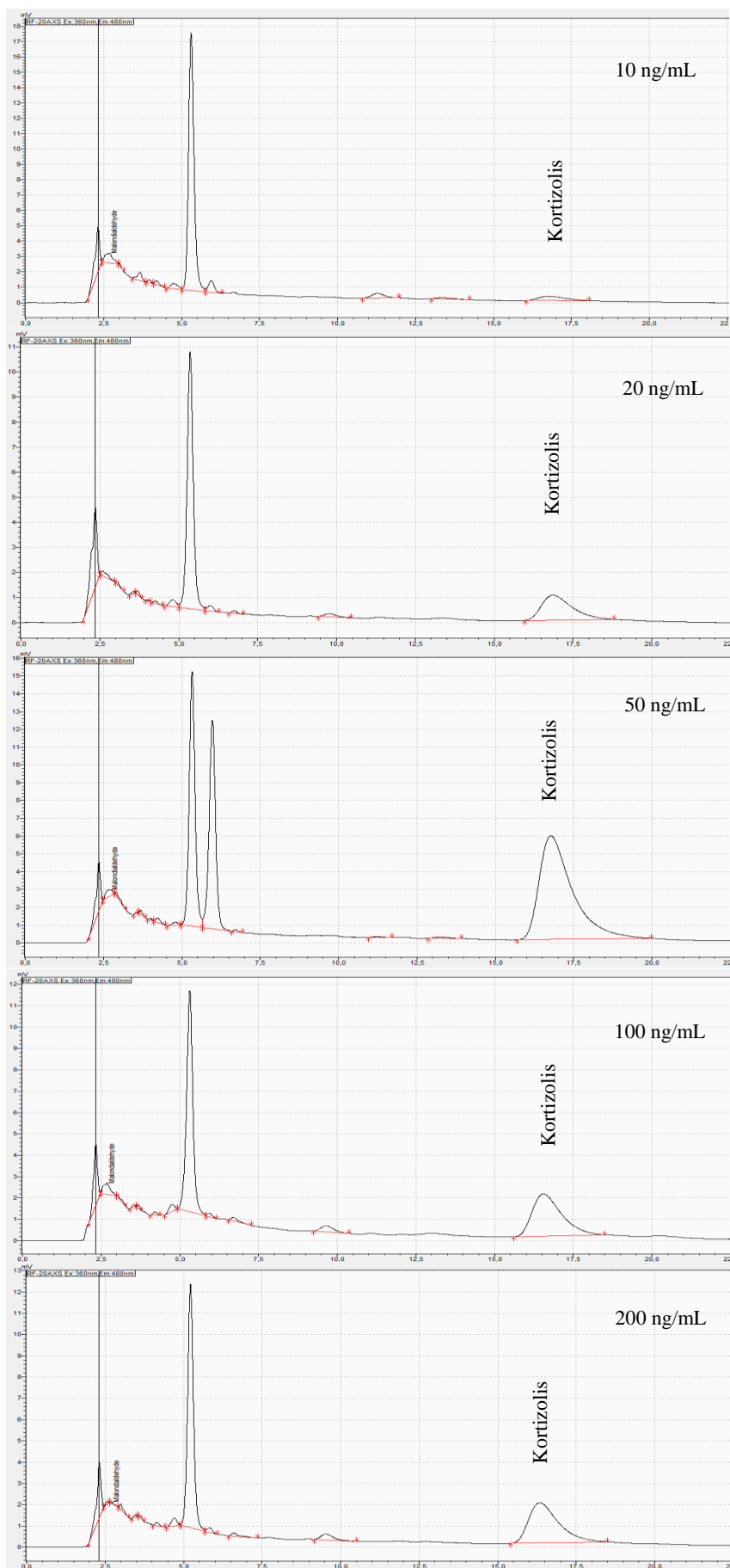
Išnagrinėjus plaukų kortizolio tyrimų metodikas bei rezultatus mokslinėje literatūroje, buvo nuspręsta plovimo etape naudoti izopropanolį, plovimą atliekant plauti 2 kartus po 3 min. Pagal Davenport M. D. ir kolegų atliktus tyrimus [11], minėtas medotas yra su mažiausiomis tiriamosios medžiagos netektimis. Plaukai buvo smulkinti žirklutėmis. Nuspręsta taikyti 20-ies valandų inkubaciją 40°C temperatūroje. Kaip matoma iš 1 lentelės, metanolis yra dažniausiai naudojamas reagentas kortizolio

išskirymui iš plaukų. Šiame darbe jis buvo pasirinktas dėl savo savybių išpūsti plauką, taip atsiveriant plauko struktūroje tarpams, per kuriuos kortizolis gali lengvai pasišalinti iš plauko vidaus [16].

3.3. Kortizolio kiekio nustatymas HPLC-FLU metodu

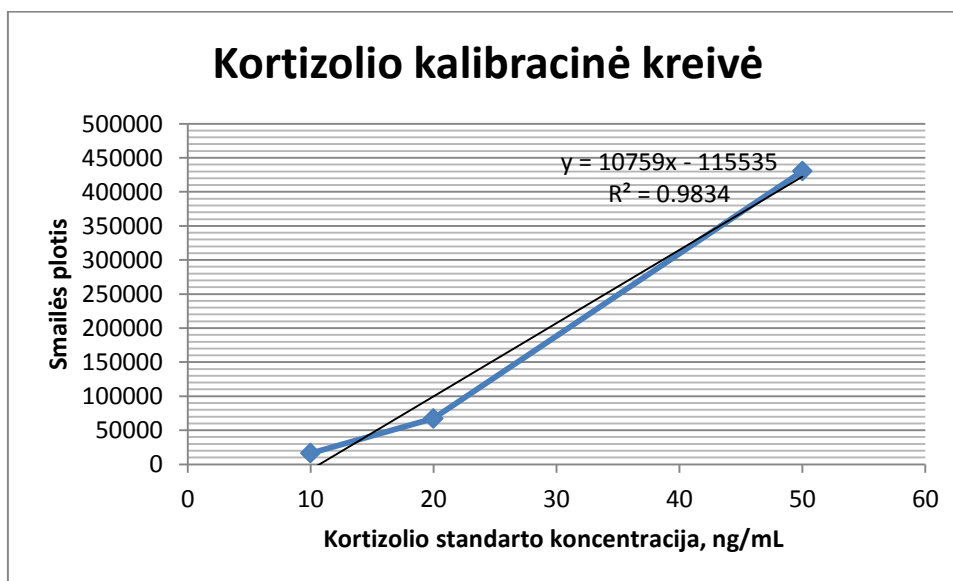
Kiekybinei kortizolio analizei buvo nuspręsta atlikti kalibravimą su šešiais standartiniais tirpalais (2, 10, 20, 50, 100, 200 ng/ml). Taip pat buvo atliktas tuščio mėginio tyrimas, siekiant įsitikinti, kad kortizolio išėjimo laiku nėra fiksuojamos kitos pašalinės medžiagos. Chromatografinės sąlygos buvo parinktos, remiantis W. Gao ir bendraautorių [18] metodika. Šiuo metodu, kortizolio smailė buvo fiksuojama 15-17,5 min. zonoje. Atlikus tuščio mėginio tyrimą, šiuo išėjimo laiku jokių smailių nebuvo pastebėta (3 pav). Todėl nuspręsta, kad chromatografinės sąlygos yra tinkamos kortizolio nustatymui tokio tipo mėginiuose. Literatūros duomenimis [18], šiomis sąlygomis kortizolio smailės chromatogramose matomos anksčiau - ties 12,8 minute. Sulaikymo trukmių skirtumas atsiranda todėl, kad naudotos chromatografinės kolonėlės yra šiek tiek skirtingos.





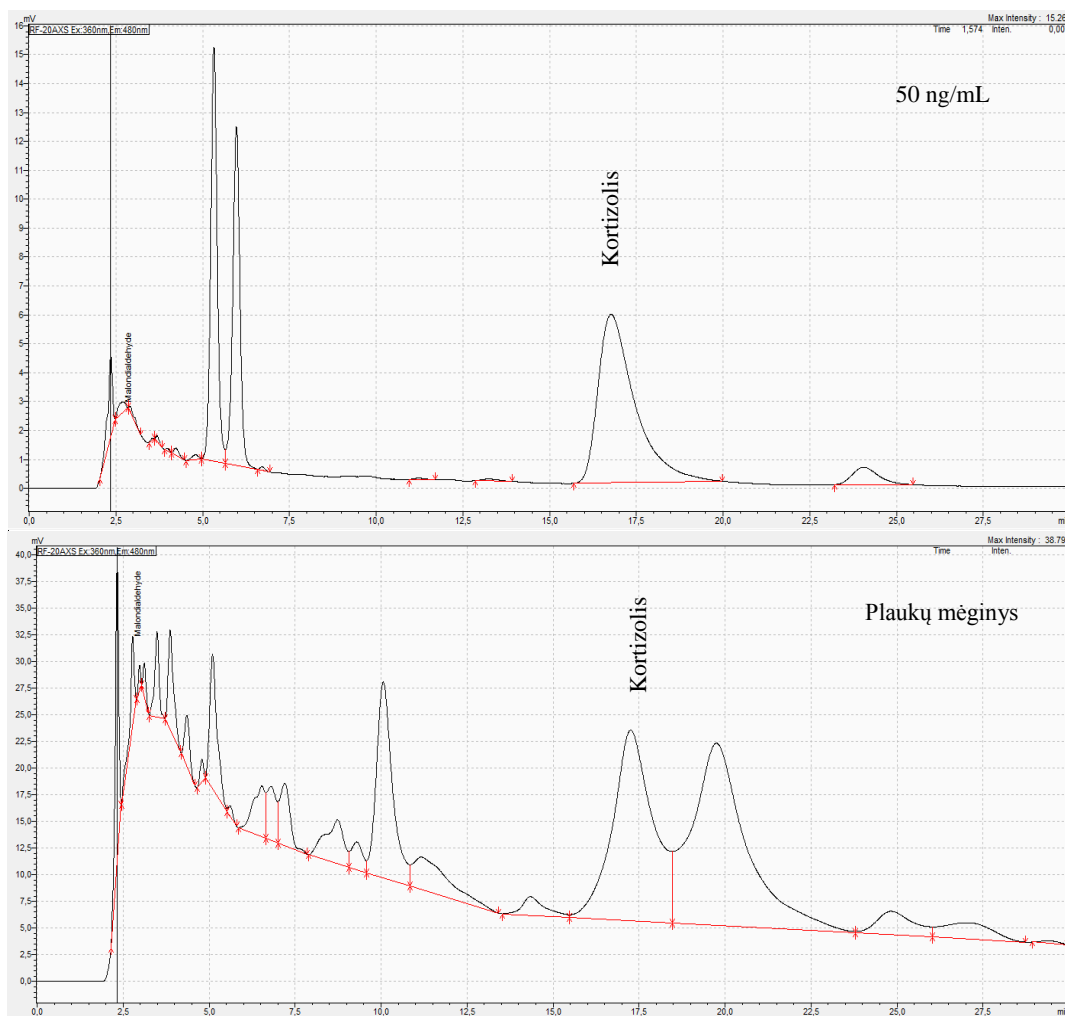
3 pav. Tuščio mėginio (metanolio) ir kortizolio standartinių tirpalų (2, 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL), atliktų HPLC-FLU metodu, chromatogramos. Kortizolio smailė ties 16,344-16,932 minutėmis.

Atlikus standartinių tirpalų chromatografiją ir analizę, paskaičiuota regresijos lygtis ir nubrėžta kortizolio kalibracinė kreivė (4 pav.). R kvadratas artimas 1, tai rodo didelę tiesinę priklausomybę. Tačiau toks rezultatas pasiektas iš kreivės eliminavus 2, 100 ir 200 ng/mL standartinių tirpalų reikšmes. Ištyrus koncentracijų intervalą nuo 2 iki 200 ng/mL pastebėta, kad padidinus kortizolio kiekį virš 50 ng/ml instrumentinis atsakas ima mažėti. Iš to galime daryti prielaidą, kad tiesinis šio metodo intervalas yra ganėtinai siauras. Šiuo metodu tiriant kortizolį plaukuose, darbinis intervalas gali būti tik 10 – 50 ng/mL. Panašūs darbiniai intervalai yra naudojami apžvelgtoje literatūroje, tačiau nėra minima jokių juos limituojančių veiksnių.



4 pav. Kortizolio standartų 2, 10, 20, 50, 100, 200 ng/mL, atliktų HPLC-FLU metodu, kalibracinė kreivė. Pavaizduoti 10, 20, 50 ng/mL kortizolio standartų taškai. R kvadratas artimas 1, kad rodo pakankamai didelę tiesinę priklausomybę.

Bandymai atlikti su plaukų mėginiais parodė, kad šis darbinis kortizolio kiekio nustatymo intervalas yra per siauras tolimesniems jo tyrimams plaukų mėginiuose. Kortizolio smailės matomos ties 16,344-16,932 minute 50 ng/mL standarto ir plaukų mėginio chromatogramose (5 pav.). Plaukų mėginyje kortizolio smailės plotas siekia 1 463 906, analitės išėjimo laikas 17,259 min., kai 50 ng/mL standarto – 430 485 ir 16,78 min. Šis rezultatas yra virš kalibracinės kreivės ribų (4 pav.), o dėl labai siauro tiesinio intervalo negalime tinkamai įvertinti kortizolio koncentracijos mėginyje. Mėginio ekstrakto taip pat yra stebima šalutinė medžiaga, kuri nėra pilnai atskiriama nuo kortizolio šiomis chromatografinėmis sąlygomis. Norint efektyviai naudoti šį metodą tokio tipo mėginių kortizolio tyrimams yra būtina išsiaiškinti darbinį koncentracinį intervalą limituojančius veiksnius, koreguoti ekstrakcijos procedūrą arba chromatografines sąlygas.



5 pav. Kortizolio plaukuose tyrimo, atlikto HPLC-FLU metodu, chromatogramos. Tirtas 50 ng/mL kortizolio standartas ir plaukų mėginys. Kortizolio smailė ties 16,78 ir 17,269 min. atitinkamai.

Rasta tik viena publikacija [18], kurioje mokslininkai vykdė kortizolio plaukuose tyrimą skysčių chromatografijos tyrimus su fluorescenciniu detektavimu metodu. Šios publikacijos metodika buvo remtasi ir šiame darbe, atlikus nedideles modifikacijas, kurios išsamiau aptartos 3.2 skyrelyje. HPLC-FLU eksplotacija ir pati metodika yra pigesnė už HPLC-MS/MS. Dėl techninių ir finansinių galimybių, bandyta atkartoti šį metodą plaukų kortizolio tyrimams, tačiau nesėkmingai. Išanalizavus chromatogramas matoma, kad kokybiškai kortizolį galime aptikti, tačiau kiekybinis vertinimas yra labai problematiškas.

Viena iš galimų nepavykusio eksperimento priežasčių – fluoresceino reakcija su kortizoliu, kuri yra būtina naudojant tokio tipo detektavimą. Norint taikyti šį metodą yra būtina išsiaiškinti minėtos reakcijos metu vykstančius cheminius procesus, jų skatinančius ir inhibuojančius veiksnius. Išnagrinėjus mažos kortizolio koncentracijos standartinių tirpalų chromatogramas, galime daryti išvadą, kad mažas šio metodo

jautris. Siekiant didesnio metodo jautrumo, reiktų naudoti detektavimą masių spektrometru.

3.4. Kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu

3.4.1. Plaukų kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu

Kortizolio tyrimui naudota po 25-26 mg žirklutėmis smulkintų plaukų. Keturių plaukų mėginių kiekiai buvo mažesni - siekė 19,5-24,0 mg. Nustatyta kortizolio koncentracija plaukuose buvo nuo 9,65 iki 811,91 pg/mg. Iš tolimesnės analizės pašalinta labiausiai iš imties išsiskyrusi reikšmė (811,91 pg/mg). Vidutinė kortizolio koncentracija mūsų imtyje buvo $64,2 \pm 70,6$ pg/mg. Duomenų išsisklaidymas nagrinėtas pagal medianą, kuri buvo 35,4 pg/mg, ir kvartilius (Q_{25} ir Q_{75}), kurių reikšmės: 18,5 ir 61,9 pg/mg.

Kiti autoriai, tyrę sveikus nenutukusius savanorius, nurodo tokius kortizolio plaukuose kiekius: mediana 46,1 pg/mg (intervalas 17,7-153,2 pg/mg) [55]. Mūsų gauta kortizolio koncentracija plaukuose yra panaši, nors rezultatų intervalas platesnis ir didesnis duomenų išsibarstymas. Kiti tyrėjai nustatė vidutinę 29,72 pg/mg kortizolio koncentraciją plaukuose, tiriant sveikus savanorius [36]. Visi minėtieji autoriai naudojo skirtingus ELISA rinkinius, skirtus kortizolio tyrimams seilėse. Jie tyrė įvairių steroidų kryžminį reaktyvumą su rinkinio, skirto seilių kortizolio tyrimams, antikūnais. Rezultate visi rinkiniai 100% reagavo su plaukų kortizoliu [1].

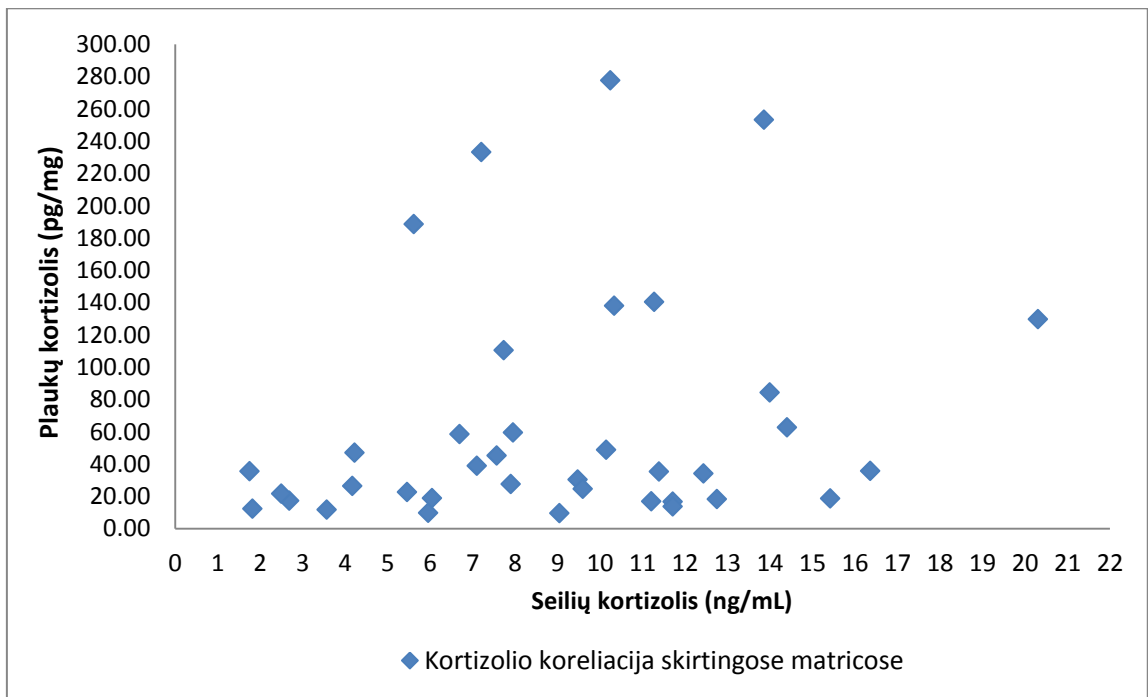
3.4.2. Seilių kortizolio kiekio nustatymas ELISA metodu

Ištirus 38-ių pacientų rytinius seilių mėginius, nustatyta kortizolio koncentracija svyruoja nuo 1,75 iki 20,3 ng/mL. Iš tolimesnės analizės pašalinta labiausiai iš imties išsiskyrusi reikšmė ir apskaičiuotas vidurkis $9,0 \pm 4,3$ ng/mL. Duomenų pasiskirstymas: mediana yra 9,0 ng/mL, kvartiliai $Q_{25}=5,8$ ng/mL ir $Q_{75}=11,5$ ng/mL.

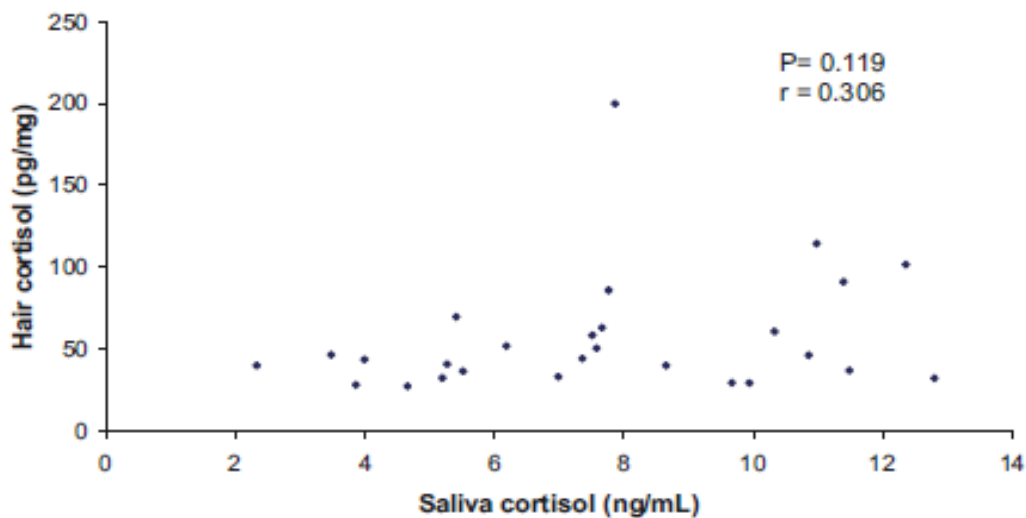
3.5. Kortizolio kiekio palyginimas plaukų ir seilių mėginiuose

Kortizolio koncentracijos plaukuose ir seilėse ryšiui įvertinti buvo atlikta koreliacinė analizė, tačiau tarpusavyje šie du dydžiai nekoreliuoja, ($p=0,306$) (7 pav.). Priežastis gali būti tai, kad plaukų kortizolio kiekis parodo ilgalaikį procesą, tuo tarpu kortizolio koncentracija seilėse – ūminį, momentinį. Be to, seilių kortizolio kiekį stipriai įtakoja mėginio ėmimo laiku esančios aplinkos sąlygos. Skaičiuojant iš imties buvo išimtos didžiausios, labiausiai nutolusios reikšmės.

B. Sauv  [55] ir kolegų atliktų tyrimų rezultatai yra panašūs. Taip pat nepastebėta koreliacija tarp plaukų ir seilių kortizolio kiekio ($p=0,119$) (7 pav. ir 8 pav.).



7 pav. Plaukų ir seilių kortizolio tarpusavio ryšys.



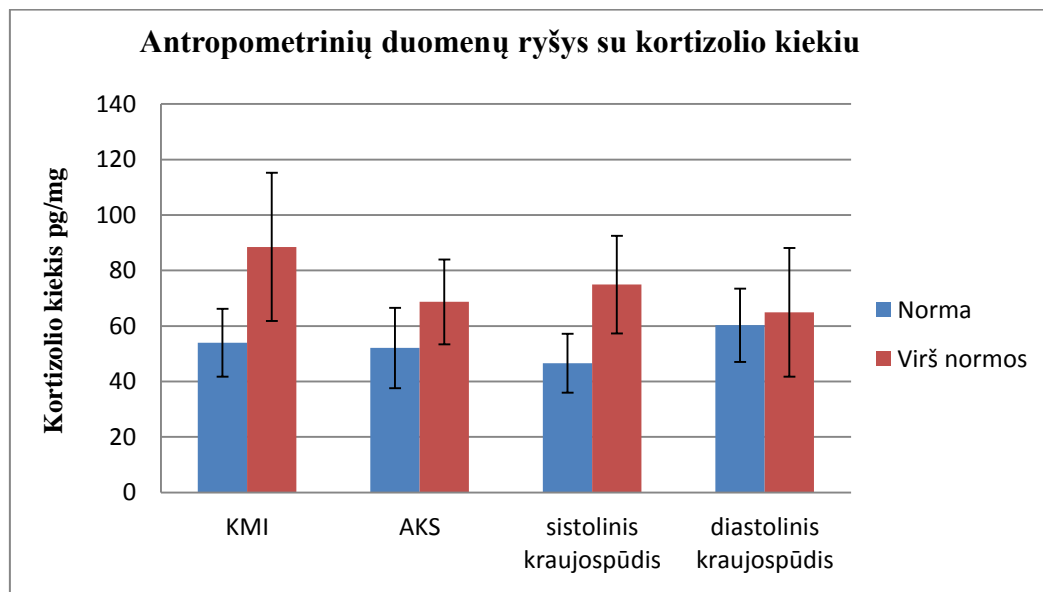
8 pav. B. Sauv  [55] gautų rezultatų analizė. Plaukų ir seilių kortizolio tarpusavio ryšys. X ašis – seilių kortizolis (ng/mL), Y ašis – plaukų kortizolis (pg/mg).

3.6. Kortizolio kiekio ir antropometrinių duomenų tarpusavio ryšys

Vertintas kortizolio koncentracijos ir KMI, AKS, sistolinio ir diastolinio kraujospūdžio tarpusavio ryšys. Kiekybinis KMI ir AKS įvertinimas su kortizolio kiekiu plaukuose nekoreliavo. Tačiau arterinio kraujospūdžio p reikšmė buvo arti statistinio reikšmingumo ($p=0,059$), o koreliacijos koeficientas r buvo 0,313. Panašius

duomenis gavo ir L. Manenschijn su bendrautoriais, preparatų [36]. Tyrėjai ieškojo koreliacijų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir KMI, sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo, tačiau statistiškai reikšmingo ryšio nustatyta nebuvo [36].

Taip pat analizavome, ar kortizolio koncentracija plaukuose skiriasi tarp normalų KMI ir viršsvorį turinčių pacientų. Nors statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo gauta, pastebėta tendencija, kad vyrų, turinčių antsvorio, kortizolio kiekis plaukuose yra didesnis ($46,6 \pm 10,6$ pg/mg vs. $74,9 \pm 17,6$ pg/mg, $p=0,248$). Taip pat nustatyta ir didesnio kortizolio kiekio plaukuose arterinę hipertenziją turinčių pacientų grupėje tendencija (9 pav).



9 pav. Kortizolio kiekio plaukuose palyginimas tarp vyrų su normaliu KMI ir viršsvoriu bei tarp vyrų su normaliu AKS ir hipertenzija.

3.7. Psichologinio streso įvertinimas

3.7.1. Psichosocialinio klausimyno rezultatai

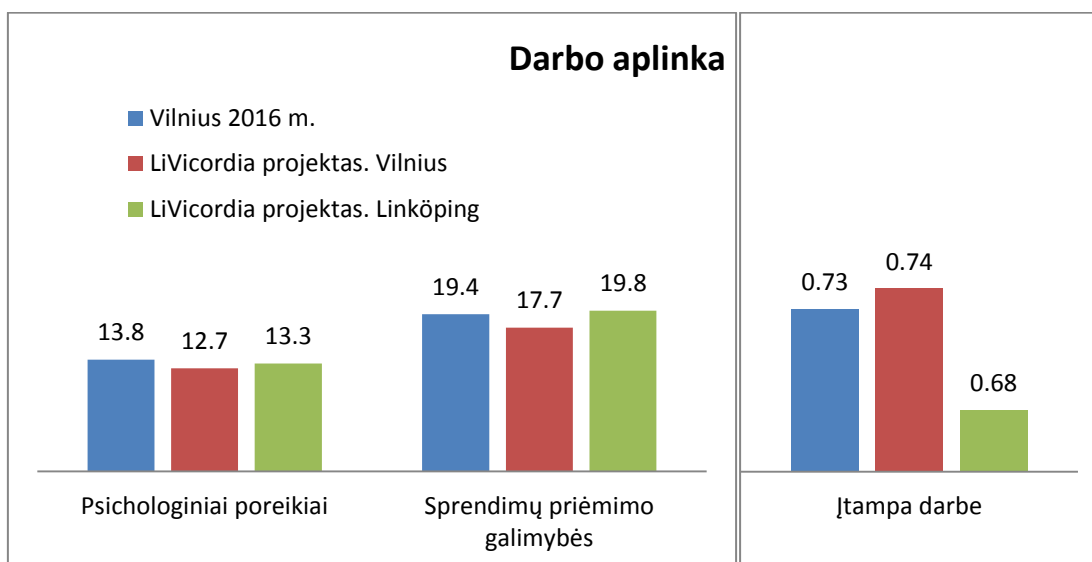
Apibendrinti psichosocialinio įvertinimo klausimyno rezultatai pateikti 3 lentelėje. Iš rezultatų matyti, kad tiriamiesiems darbo aplinka nesukelia stipraus streso. Pagal klausimyno rezultatus, dalyviai jaučia socialinę paramą, ypač emocinę. Tiriamieji pasižymi gerais gebėjimais susidoroti su gyvenimiškais įvykiais. Dalyviai jaučia vidutinę savigarbą ir vidinę darną. Depresijos lygmuo dalyvių tarpe yra žemas.

3 lentelė. Psichosocialinio klausimyno rezultatai

	Taškų skalės intervalas	Mediana	Vidurkis	SD
Darbo aplinka:				
Psichologiniai poreikiai	5-20	14	13,76	2,41
Sprendimų priėmimo galimybės	6-24	20	19,37	2,7
Įtampa darbe	0,2-3,3	0,7208	0,73	0,2
Socialinė parama:				
Socialinė parama darbe	8-32	24,5	24,13	4,44
Emocinė parama	0-6	6	5,42	1,14
Socialinė integracija	6-36	18	19,55	5,98
Asmenybė:				
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	7-28	24	24,08	3,27
Savigarba	10-40	33	31,68	5,43
Vidinė darna	13-91	64	64,16	8,47
Priešiškumas	48-192	135	134,29	16,57
Imersija (įsitraukimas)	29-116	73	73	10,3
Išsekimas	19-57	30	31,21	6,22
Depresija	0-39	1	2,34	2,39

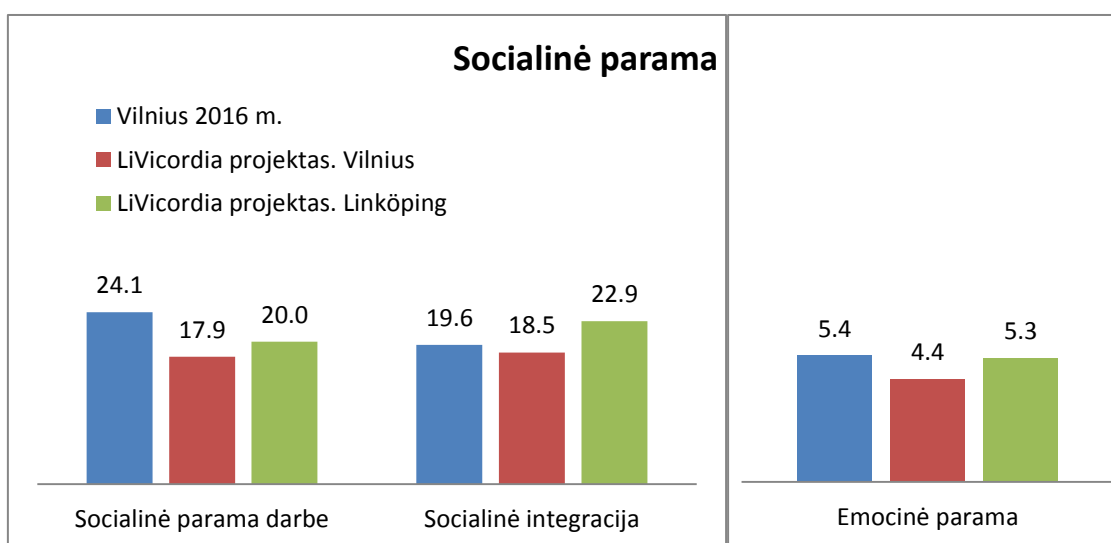
3.7.2. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais.

Šiame darbe naudotas psichosocialinis klausimynas, parengtas ir validuotas LiVicordia projekte. LiVicordia projekto darbo grupė [30] atliko streso vertinimo tyrimą dviejose tiriamųjų grupėse: 50-ies metų vyrų iš Vilniaus ir Linköping (Švedija) miestų. Lyginant mūsų tyrimo rezultatus su LiVicordia projekto, darbo aplinkos domene matoma, kad sumažėjo Vilniaus vyrų psichologinių poreikių patenkinimas, bet pagerėjo sprendimų priėmimo galimybės ir priartėjo prie Linköping miesto rezultatų 1998-aisiais metais (10 pav.). Tačiau toliau stipriai jaučiama įtampa darbe.



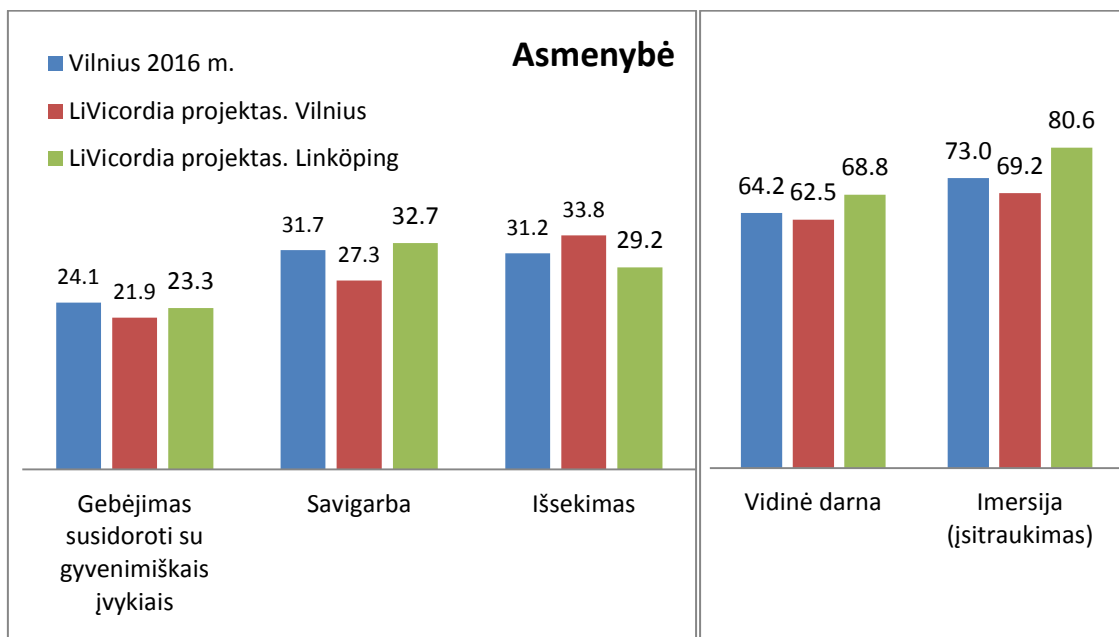
10 pav. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais. Darbo aplinka domenai.

Vilniaus vyrai (2016 m.) jautė stipresnę socialinę paramą darbe bei emocinę paramą nei LiVicordia projekto metu Vilniaus ir Linköping miestų vyrai. Socialinė integracija taip pat artėja prie buvusio švedų lygio (11 pav.).



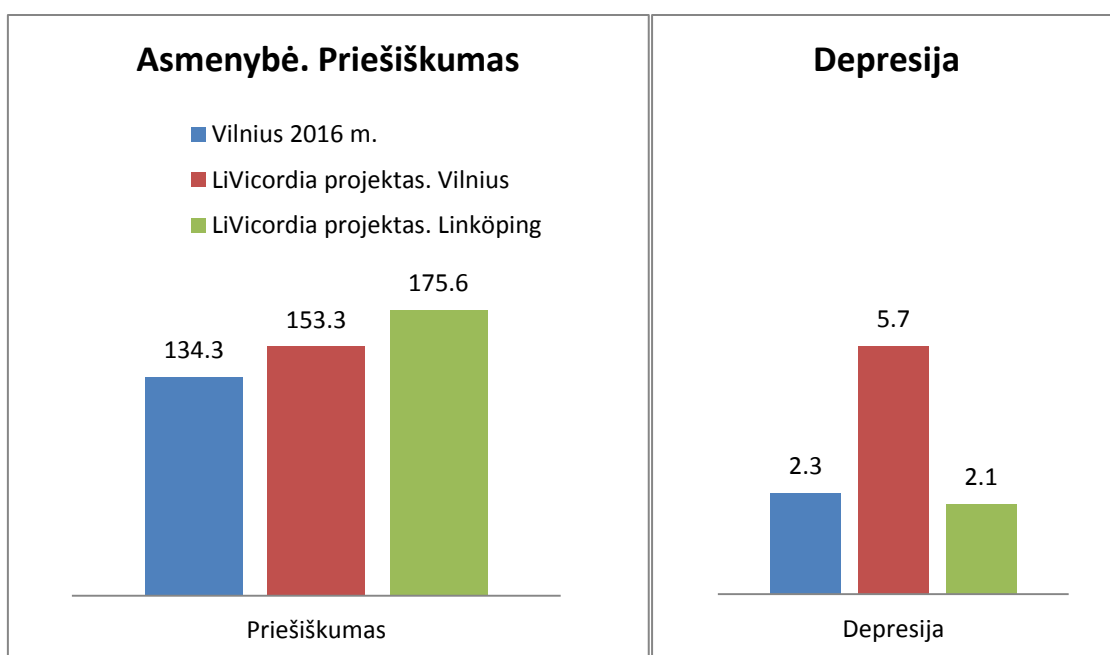
11 pav. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais. Socialinė parama domenai.

Gebėjimo susidoroti su gyvenimiškais įvykiais, savigarbos domenų rezultatai artimesni Švedijos miestui. Lietuvoje vidinės darnos, imersijos domenų rezultatai nedaug pakito per pastaruosius 18-olika metų, tačiau artėja prie Linköping miesto verčių (12 pav.). Išsekimas panašus ir į Vilniaus, ir į Linköping buvusius rezultatus (13 pav.).



12 pav. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais. Asmenybės domenai.

Dabartinėje tirtoje grupėje prieššikumas padidėjęs, lyginant su LiVicordia projekto [30] tyrimo rezultatais. Pagerėjo depresijos rezultatai ir priartėjo prie švedų (13 pav.).



13 pav. Klausimyno iš LiVicordia projekto rezultatų pokyčiai tiriant Vilniaus vyrus 1998 ir 2016-aisiais metais. Asmenybės ir depresija domenai.

Apibendrinant, Lietuvos vyrų dabartiniai psichosocialinio testo rezultatai panašesni į Švedijos miesto Linköping. Tačiau skiriasi tirtos amžiaus grupės: dabartiniame tyrime dalyvavo 25-55 metų vyrai, tuo tarpu LiVicordia tyrime – apie 50-ies. Todėl negalima vienareikšmiškai lyginti šių aukščiau aptartų rezultatų. Taip pat

norint statistiškai reikšmingos analizės, reiktų atlikti išsamia statistinę analizę su visais LiVicordia projekto duomenimis.

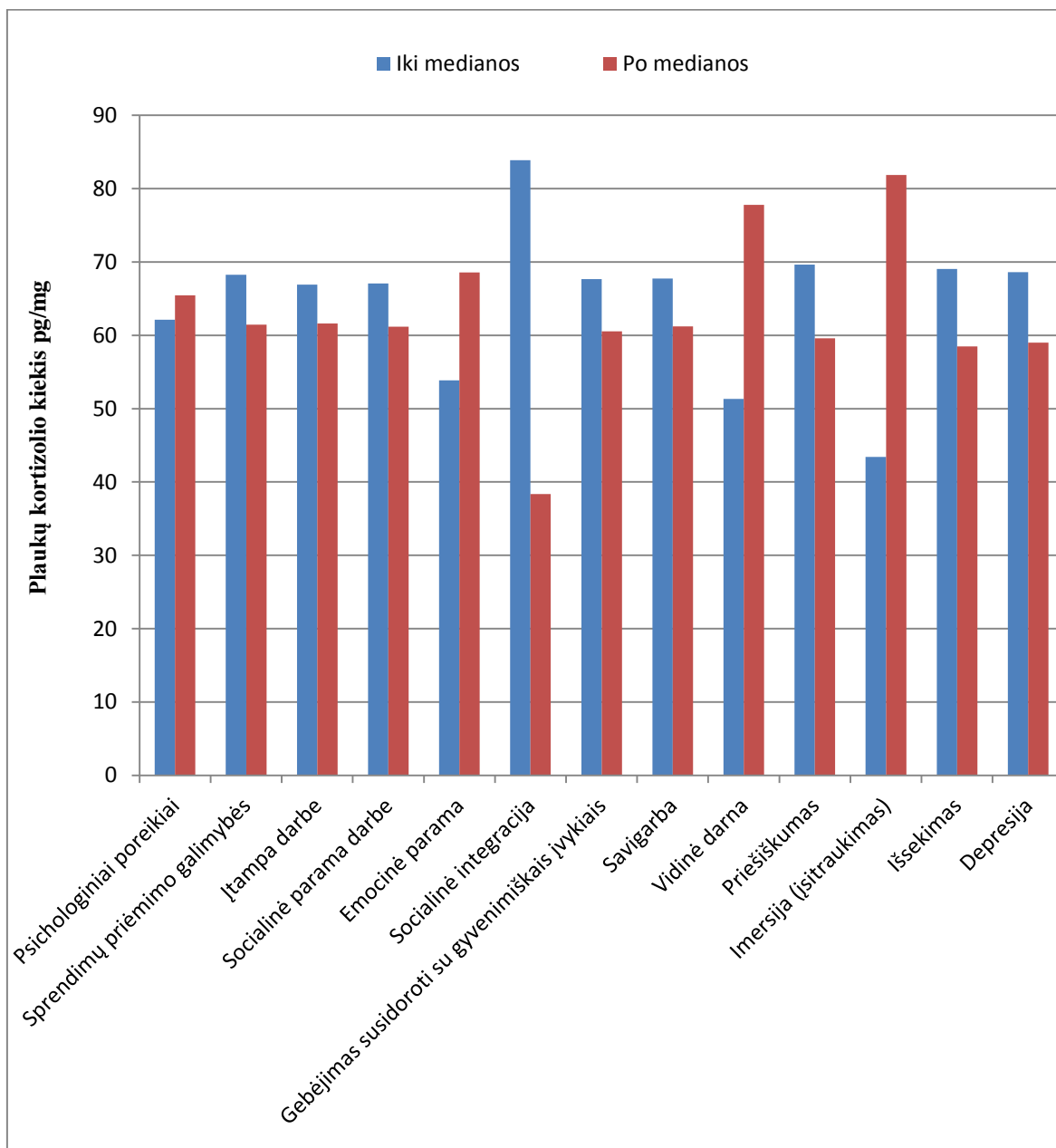
3.7.3. Psichosocialinio klausimyno tarpusavio ryšys su kortizolio kiekiu

Darbe buvo ieškota sąsajų tarp kortizolio kiekio plaukuose ir atskirų psichosocialinio klausimyno dalių įvertinimo balais. Nustatyta, kad nei vienos iš šių testo dalių kiekybinis įvertinimas nekoreliavo su kortizolio kiekiu plaukuose (4 lentelė).

4 lentelė. Kortizolio koncentracijos ryšys su psichosocialinio klausimyno dalimis.

Psichosocialinio klausimyno dalys:	<i>p</i> reikšmė	<i>r</i> reikšmė
Psichologiniai poreikiai	0,731	0,059
Sprendimų priėmimo galimybės	0,904	0,021
Įtampa darbe	0,982	0,004
Socialinė parama darbe	0,486	-0,118
Emocinė parama	0,913	0,019
Socialinė integracija	0,220	-0,207
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	0,465	-0,124
Savigarba	0,418	-0,137
Vidinė darna	0,802	0,043
Priešiškumas	0,611	-0,086
Imersija (įsitraukimas)	0,127	0,255
Išsekimas	0,699	-0,066
Depresija	0,926	-0,016

Kiekvienos klausimyno dalies rezultatai buvo suskirstyti pagal medianą į dvi grupes: iki ir po medianos vertės, ir vertinta kortizolio koncentracijos plaukuose skirtumai šiose grupėse (14 pav.). Nors statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatėme, tačiau pastebėta tendencija kad, esant prastai socialinei integracijai, didėja kortizolio kiekis plaukuose. Taip pat pastebėtas ryšys tarp imersijos ir kortizolio kiekio – stipri imersija lemia kortizolio koncentracijos didėjimą plaukuose. Kita vertus, mūsų tyrimo rezultatai rodo, kad net ir esant gerai vidinei darnai bei jaučiant stiprią emocinę paramą, yra nemažas kortizolio kiekis plaukuose. Deja, greičiausia dėl mažos tiriamųjų imties, šie rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi.



14 pav. Kortizolio ryšys su atskiromis psichologinio streso įvertinimo testo dalimis. Analizei naudotas t kriterijus.

Apibendrinant, norint gauti tikslesnius rezultatus, reiktų didinti tiriamųjų imtį. Taip pat gerai būtų kuo daugiau skirtingų tiriamųjų: mažai streso patiriantys ir su stipriai išreikštu stresu.

IŠVADOS

1. Efektyviosios skysčių chromatografijos su fluorescenciniu detektavimu metodo jautrumas kortizolio kiekiui plaukuose nustatyti yra per mažas.
2. Sveikų 25 – 55 m. amžiaus vyrų vidutinė kortizolio koncentracija plaukuose (3 cm ilgio) yra $64,2 \pm 70,6$ pg/mg (intervalas 9,65 iki 811.91 pg/mg), rezultatų mediana 35,4 pg/mg.
3. Ilgalaikę sekreciją atspindinti kortizolio koncentracija plaukuose ir bazinę rytinę sekreciją parodanti kortizolio koncentracija seilėse tarpusavyje nėra susijusios.
4. Statistiškai reikšmingai ryšys tarp kortizolio kiekio plaukuose ir psichosocialinio klausimyno įvertinimo nenustatytas. Nustatyta tendencija, kad esant prastai socialinei integracijai bei stipriai imersijai kortizolio kiekis plaukuose yra didesnis.

Summary

Stress is considered to be one of the risk factors for various diseases. It can be evaluated by various psychological tests, according to antropometric data or by measuring cortisol concentration. Cortisol found in saliva, urine and blood is used as a stress biomarker to confirm the state of acute stress, although the detection of this hormone in the aforementioned bodily fluids enables the evaluation of a short-term increase in cortisol concentration and does not translate well into a long-term process. It is a well-known fact that various substances tend to be deposited in the hair, therefore hair cortisol content was evaluated as a marker for chronic stress. Hair grows about 1 cm per month and cortisol content in one centimeter of hair reflects the medium concentration of the hormone and the level of stress over one month. This enables one to analyze long-term stress related processes.

Methods. 25 – 55 year old healthy males were subject to evaluation. A psychosocial questionnaire from the LiVicordia project was used to evaluate the psychological level of stress. HPLC-FLU and ELISA were used for the quantitative cortisol analysis. Microsoft Excel 2007 and IBM SPSS (V.23) software packages were used for the statistical analysis of the data.

Results. The HPLC-FLU system cannot be used to quantitatively determine hair cortisol because it is not sensitive enough. The median amount of 35.4 pg/mg of cortisol was determined in 25-26 mg of hair. The median amount of saliva cortisol was equal to 9.0 ng/mL. There was no correlation between hair cortisol and saliva cortisol ($p=0.306$). No correlation between BMI or ABP and hair cortisol was found. None of the parts of the psychosocial questionnaire was found to correlate with hair cortisol contents. Some links were found between certain parts of the test and hair cortisol content.

Conclusions. The sensitivity of high performance liquid chromatography with fluorescence detection for hair cortisol analysis was insufficient. The mean hair cortisol level in healthy 25-55 year old men was 64.2 ± 70.6 pg/mg with lowest value being 9.65, highest - 811.91 pg / mg, and a median - 35.4 pg / mg. The relations between hair cortisol level corresponding long-term secretion and salivary morning cortisol level corresponding basal secretion was not found. There was no statistically significant relation between the hair cortisol level and psychosocial assessment score. However, there was a tendency of higher hair cortisol levels in patients with poor social integration and strong immersion traits.

NAUDOTI INFORMACIJOS ŠALTINIAI

Straipsniai:

1. Albar W. F., Russell E. W., Koren G., Rieder M. J., Van Umm S. H. Human hair cortisol analysis: Comparison of the internationally reported ELISA methods. *Clin Invest Med* 2013; 36(6):E312-6.
2. Ali N., Pruessner J. C. The salivary alpha amylase over cortisol ratio as a marker to assess dysregulations of the stress systems. *Physiology & Behavior* 2012; 106:65–72.
3. Andrade E. H., Rizzo L. B., Noto C., Ota V. K., Gadelha A., Daruy-Filho L., et al. Hair cortisol in drug-naïve first-episode individuals with psychosis. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2016; 38:11–6.
4. Bozovic D., Racic M., Ivkovic N. Salivary Cortisol Levels as a Biological Marker of Stress Reaction. *Medical Archives* 2013; 67(5): 374-7.
5. Carrasco G. A. and van de Kar L. D. Neuroendocrine pharmacology of stress. *European Journal of Pharmacology* 2003; 463:235–72.
6. Castro-Diehl C., Diez Roux A. V., Teresa Seeman T., Shea S., Shrager S., Tadros S. Associations of socioeconomic and psychosocial factors with urinary measures of cortisol and catecholamines in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Psychoneuroendocrinology*. 2014; 41:132—41.
7. Chrousos, G.P. Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology* 2009; 5:374-81.
8. Cirimele V., Kintz P., Dumestre V., Gouille J. P., Ludes B. Identification of ten corticosteroids in human hair by liquid chromatography–ionspray mass spectrometry. *Forensic Science International* 2000; 107:381–8.
9. D'Anna-Hernandez K. L., Ross R. G., Natvig C. L., Laudenslager M. L. Hair cortisol levels as a retrospective marker of hypothalamic–pituitary axis activity throughout pregnancy: Comparison to salivary cortisol. *Physiology & Behavior* 2011; 104:348–53.
10. Davenport M. D., Lutz C. K., Tiefenbacher S., Novak M. A. and Meyer J. S. A Rhesus Monkey Model of Self Injury: Effects of Relocation Stress on Behavior and Neuroendocrine Function. *Biological Psychiatry* 2008; 63(10):990–6.
11. Davenport M. D., Tiefenbacher S., Lutz C. K., Novak M. A., Meyer J. S. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *General and Comparative Endocrinology* 2006; 147:255–61.

12. Dettenborn L., Tietze A., Bruckner F., Kirschbaum C. Higher cortisol content in hair among long-term unemployed individuals compared to controls. *Psychoneuroendocrinology* 2010; 35:1404-9.
13. Dettenborn L., Tietze A., Kirschbaum C., Stalder T. The assessment of cortisol in human hair: Associations with sociodemographic variables and potential confounders. *Stress* 2012; 1–11.
14. Dowlati Y., Herrmann N., Swardfager W., Thomson S., Oh P. I., Van Uum S., et al. Relationship between hair cortisol concentrations and depressive symptoms in patients with coronary artery disease. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2010; 6:393-400.
15. Fogelman N. and Canli T. ‘Purpose in Life’ as a psychosocial resource in healthy aging: an examination of cortisol baseline levels and response to the Trier Social Stress Test. *npj Aging and Mechanisms of Disease* 2015; 1:1-3.
16. Gao W., Kirschbaum C., Grass J., Stalder T. LC–MS based analysis of endogenous steroid hormones in human hair. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.12.022>.
17. Gao W., Stalder T., Foley P., Rauh M., Deng H., Kirschbaum C. Quantitative analysis of steroid hormones in human hair using a column-switching LC–APCI–MS/MS assay. *Journal of Chromatography B* 2013; 928:1-8.
18. Gao W., Xie O., Jin J., Qiao T., Wang H., Chen L., et al. HPLC-FLU detection of cortisol distribution in human hair. *Clinical Biochemistry* 2010; 43:677–82.
19. Gerber M., Brand S., Lindwall M., Elliot C., Kalak N., Herrmann C., et al. Concerns regarding hair cortisol as a biomarker of chronic stress in exercise and sport science. *Journal of Sports Science and Medicine* 2012; 11:571-81.
20. Gow R., Thomson S., Rieder M., Van Uum S., Koren G. An assessment of cortisol analysis in hair and its clinical applications. *Forensic Science International* 2010; 196:32–7.
21. Grass J., Kirschbaum C., Miller R., Gao W., Steudte-Schmiedgen S., Stalder T. Sweat-inducing physiological challenges do not result in acute changes in hair cortisol concentrations. *Psychoneuroendocrinology* 2015; 53:108—16.
22. Hansen A. M., Blangsted A. K., Hansen E. A., Sjøgaard K., Sjøgaard G. Physical activity, job demand-control, perceived stress-energy, and salivary cortisol in white-collar workers. In *Arch Occup Environ Health* 2010; 83:143-53.
23. Herane Vives A., De Angel V., Papadopoulos A., Strawbridge R., Wise T., Young A. H., et al. The relationship between cortisol, stress and psychiatric

- illness: New insights using hair analysis. *Journal of Psychiatric Research* 2015; 70:38-49.
24. Hill E. E., Zack E., Battaglini C., Viru M., Viru A. and Hackey A.C. Exercise and circulating cortisol levels: The intensity threshold effect. *Journal of Endocrinology Investigation* 2008; 31:587-91.
 25. Hotta M., Shibasaki T., Masuda A., Imaki T., Demura H., Ling N., et al. The Responses of Plasma Adrenocorticotropin and Cortisol to Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) and Cerebrospinal Fluid Immunoreactive CRH in Anorexia Nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1986; 62(2):319-24; <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-62-2-319>.
 26. Hudson A. L., Lalies M. D., Baker G. B., Wells K., and Aitchison K. J. Ecstasy, legal highs and designer drug use: A Canadian perspective. *Drug Science, Policy and Law* 2014; 0(0):1-9.
 27. Kalra S, Einarson A, Karaskov T, van Uum S, Koren G. The relationship between stress and hair cortisol in healthy pregnant women. *Clinical and Investigative Medicine* 2007; 30(2):E103–7.
 28. Karlén J., Ludvigsson J., Frostell A., Theodorsson E. and Faresjö T. Cortisol in hair measured in young adults – a biomarker of major life stressors? *BMC Clinical Pathology* 2011; 11(12):1-6.
 29. Kintz P. Matrices alternatives et toxicologie médico-légale. *Toxicologie et pharmacologie médico-légales*. Elsevier 1998; 685–710.
 30. Kirschbaum C., Tietze A., Skoluda N., Dettenborn L. Hair as a retrospective calendar of cortisol production increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34(1):32-7.
 31. Kirstenson M., Kucinskiene Z., Bergdahl B., Calkauskas H., Urmonas V., Orth-Gomer K. Increased Psychosocial Strain in Lithuanian Versus Swedish Men: The LiVicordia Study. *Psychosomatic Medicine*. 1998; 60:277-82.
 32. Knights K. M., Rowland A. and Miners J. O. Renal drug metabolism in humans: the potential for drug–endobiotic interactions involving cytochrome P450 (CYP) and UDP-glucuronosyltransferase (UGT). *British Journal of Clinical Pharmacology* 2013; 76(4):587-602.
 33. Lagraauw M. H., Kuiper J., Bot I. Acute and chronic psychological stress as risk factors for cardiovascular disease: Insights gained from epidemiological, clinical and experimental studies. *Brain, Behavior, and Immunity* 2015; 50:18–30.

34. Liu C. H., Snidman N., Leonard A., Meyer J., Tronick E. Intra-Individual Stability and Developmental Change in Hair Cortisol Among Postpartum Mothers and Infants: Implications for Understanding Chronic Stress. *Developmental Psychobiology* 2016; 9999:1–10.
35. Luo H., Hu X., Liu X., Ma X., Guo W., Qiu C., et al. Hair Cortisol Level as a Biomarker for Altered Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Activity in Female Adolescents with Posttraumatic Stress Disorder After the 2008 Wenchuan Earthquake. *Biological Psychiatry* 2012; 72:65-9.
36. Manenschijn L., Koper J. W., Lamberts S. W. J., van Rossum E. F. C. Evaluation of a method to measure long term cortisol levels. *Steroids* 2011; 76:1032–6.
37. Manenschijn L., Schaap L., van Schoor N. M., van der Pas S., Peeters G. M. E. E., Lips P., et al. High Long-Term Cortisol Levels, Measured in Scalp Hair, Are Associated With a History of Cardiovascular Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(5):2078–83.
38. Mariotti A. The effects of chronic stress on health: new insights into the molecular mechanisms of brain–body communication. *Future Science OA* 2015; 1(3):FSO23
39. McEwen B. S. Physiology and Neurobiology of Stress and Adaptation: Central Role of the Brain. *Physiological Reviews* 2007; 87:873–904.
40. Meyer J. S. and Novak M. A. Minireview: Hair Cortisol: A Novel Biomarker of Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Activity. *Endocrinology* 2012, 153(9):4120–7.
41. Milam J., Slaughter R., Verma G. and McConnell R. Hair Cortisol, Perceived Stress and Dispositional Optimism: A Pilot Study among Adolescents. *Journal of Traumatic Stress & Disorders Treatment* 2014; 3(3):1-13.
42. Miller R., Plessow F., Rauh M., Gro M., Kirschbaum C. Comparison of salivary cortisol as measured by different immunoassays and tandem mass spectrometry. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38:50—7.
43. Noppe G., de Rijke Y. B., Dorst K., van den Akker E .L., van Rossum E. F. LC-MS/MS based method for long-term steroid profiling in human scalp hair. *Clinical Endocrinology* 2015; 83(2):162-6.

44. O'Brien K. M., Tronick E. Z., Moore C. L. Research Article. Relationship between Hair Cortisol and Perceived Chronic Stress in a Diverse Sample. *Stress and Health* 2013; 29: 337–44.
45. Parrott A. C., Sand H. R., Jones L., Clow A., Evans P., Downey L. A., et al. Increased cortisol levels in hair of recent Ecstasy/MDMA users. *European Neuropsychopharmacology* 2014; 24:369–74.
46. Perminas A., Pečiulienė I., Jarašiūnaitė G., Gustainienė L. Subjektyviai suvokto streso kitimas taikant progresuojančios raumenų bei biogrižtamojo ryšio relaksacijas studentų grupėje. *Sveikatos mokslai/Health sciences* 2014; 24(4):22-33.
47. Peters A., McEwen B. S. Stress habituation, body shape and cardiovascular mortality. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2015; 56:139–50.
48. Qi X., Zhang J., Liu Y., Ji S., Chen Z., Sluiter J. K., et al. Relationship between effort–reward imbalance and hair cortisol concentration in female kindergarten teachers. *Journal of Psychosomatic Research* 2014; 76:329–32.
49. Quinete N., Bertram J., Reska M., Lang J., Kraus T. Highly selective and automated online SPELC–MS3 method for determination of cortisol and cortisone in human hair as biomarker for stress related diseases. *Talanta* 2015; 134:310–6.
50. Rask E., Simonyte K., Lönn L. and Axelson M. Cortisol metabolism after weight loss: associations with 11 b-HSD type 1 and markers of obesity in women. *Clinical Endocrinology* 2013; 78:700–5.
51. Raul J.-S., Cirimele V., Ludes B., Kintz P. Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair. *Clinical Biochemistry* 2004; 37:1105–11.
52. Reinehr T., Kulle A., Wolters B., Knop C., Lass N., Welzel M., et al. Relationships Between 24-Hour Urinary Free Cortisol Concentrations and Metabolic Syndrome in Obese Children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2014; 99(7):2391–9.
53. Russell E., Kirschbaum C., Laudenslager M. L., Stalder T., de Rijke Y., van Rossum E. F., et al. Toward standardization of hair cortisol measurement: results of the first international interlaboratory round robin. *Therapeutic Drug Monitoring* 2015; 37(1):71-5.

54. Russell E., Koren G., Rieder M., Uum S. V. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: Current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37:589-601.
55. Sauvé B., Koren G., Walsh G., Tokmakejian S. Van Uum S. H. M. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clinical & Investigative Medicine* 2007; 30(5):E183-91.
56. Shahidi B., Sannes T., Laudenslager M., Maluf K. S. Cardiovascular responses to an acute psychological stressor are associated with the cortisol awakening response in individuals with chronic neck pain. *Physiology & Behavior* 2015; 150:93–8.
57. Sj rs A., Ljung T., Ingibj rg H. Jonsdottir I. H. Diurnal salivary cortisol in relation to perceived stress at home and atwork in healthy men and women. *Biological Psychology* 2014; 99:193–7.
58. Skoluda N., Dettenborn L., Stalder T., Kirschbaum C. Elevated hair cortisol concentrations in endurance athletes. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37:611—7.
59. Smyth N., Bianchin M., Thorn L., Hucklebridge F., Kirschbaum C., Stalder T., et al. Hair cortisol concentrations in relation to ill-being and well-being in healthy young and old females. *International Journal of Psychophysiology* 2016; 102:12–7.
60. Soldin S. J., Soldin O. P. Steroid hormone analysis by tandem mass spectrometry. *Clinical biochemistry* 2009; 55(6):1061-6.
61. Stalder T., Kirschbaum C. Analysis of cortisol in hair--state of the art and future directions. *Brain, Behavior and Immunity* 2012; 10(7): 1019-29.
62. Stalder T., Kirschbaum C., Alexander N., Bornstein S. R., Gao W., Miller R., et al. Cortisol in Hair and the Metabolic Syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2013; 98(6):2573-80.
63. Stalder T., Kirschbaum C., Heinze K., Steudte S., Foley P., Tietze A., et al. Use of hair cortisol analysis to detect hypercortisolism during active drinking phases in alcohol-dependent individuals. *Biol. Psychol.* 2011; 85:357–60.
64. Stalder T., Steudte S., Alexander N., Miller R., Gao W., Dettenborn L., et al. Cortisol in hair, body mass index and stress-related measures. *Biological Psychology* 2012; 90(3):218-23.
65. Thomson S., Koren G., Fraser L. A., Rieder M., Friedman T. C., Van Uum S. H. M. Hair Analysis Provides a Historical Record of Cortisol Levels in Cushing’s

- Syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 2010; 118(2):133–8.
66. van Holland J. B., Frings-Dresen M. H. W., Sluiter J. K. Measuring short-term and long-term physiological stress effects by cortisol reactivity in saliva and hair. *International archives of occupational and environmental health* 2012; 85(8):849-52.
67. Van Uum S., Sauve B., Fraser L. A., Morley-Forster P., Paul T.L., Koren G., Elevated content of cortisol in hair of patients with severe chronic pain: a novel biomarker for stress. *Stress* 2008; 11(6):483–8.
68. Vanaelst B., Rivet N., Huybrechts I., Ludes B., De Henauw S. and Raul J.-S. Measurement of cortisol and cortisone in children's hair using ultra performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Analytical Methods* 2013; 5:2074–82.
69. Wosu A. C., Valdimarsdóttir U., Shields A. E., Williams D. R., Williams M. A. Correlates of cortisol in human hair: implications for epidemiologic studies on health effects of chronic stress. *Annals of Epidemiology* 2013; 23:797-811.
70. Xiao Y.-J., Hu M., Tomlinson B. Effects of grapefruit juice on cortisol metabolism in healthy male Chinese subjects. *Food and Chemical Toxicology* 2014; 74: 85–90.
71. Yamada J., Stevens B., de Silva N., Gibbins S., Beyene J., Taddio A., et al. Hair cortisol as a potential biologic marker of chronic stress in hospitalized neonates. *Neonatology* 2007; 92(1):42-9.
72. Yu T., Xu H., Wang W., Li S., Chen Z., Deng H. Determination of endogenous corticosterone in rodent's blood, brain and hair with LC–APCI–MS/MS. *Journal of Chromatography B* 2015; 1002:267–76.
73. Zeitzer J. M., Nouriani B., Neri E., Spiegel D. Correspondence of Plasma and Salivary Cortisol Patterns in Women with Breast Cancer. *Neuroendocrinology* 2014; 100:153–61.

PRIEDAI

1 priedas

ATEROSTRES. Streso vertinimo klausimynas

C. Darbo aplinka

Klausimai apie reikalavimus Jūsų darbe. (*Pateikti 1 atsakymą į kiekvieną klausimą.*)

1. Ar Jūsų darbas reikalauja dirbti greitai?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
2. Ar Jūsų darbas reikalauja, kad dirbtumėte labai sunkiai?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
3. Ar Jūsų darbas reikalauja per didelių pastangų?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
4. Ar pakanka laiko, kad įvykdytumėte visas darbo užduotis?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
5. Ar pasitaiko vienas kitam prieštaraujančių reikalavimų Jūsų darbe?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
6. Ar Jums tenka išmokti naujų dalykų Jūsų darbe?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
7. Ar Jūsų darbas reikalauja sumanumo?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
8. Ar Jūsų darbas reikalauja išradingumo?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai
 - ne, niekada
9. Ar Jūsų darbe taip būna, kad reikia kokį veiksmažodį vėl ir vėl kartoti?
 - taip, dažnai
 - taip, kartais
 - ne, retai

ne, niekada

10. Ar turite savo darbe laisvę spręsti, kaip jis bus vykdomas?

- taip, dažnai
- taip, kartais
- ne, retai
- ne, niekada

11. Ar turite savo darbe laisvę spręsti, kas bus vykdoma?

- taip, dažnai
- taip, kartais
- ne, retai
- ne, niekada

12. Jei Jūs turite sunkių užduočių darbe, ar galite tikėtis (gauti) pagalbos?

- taip, dažnai
- taip, kartais
- ne, retai
- ne, niekada

Kokia Jūsų darbo vietos aplinka? (Pateikti 1 atsakymą į kiekvieną klausimą).

1. Ramios ir malonios nuotaikos aplinka

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

2. Geras savitarpio supratimas

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

3. Mano bendradarbiai padeda man

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

4. Aplinkiniai supranta, kad ir man gali būti bloga diena

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

5. Gerai sutariu su savo valdžia

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

6. Man gera su bendradarbiais

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

7. Lengva atvirai diskutuoti su savo bendradarbiais

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

H. Asmeniniai santykiai ir Jūsų aplinkos žmonės

- 1. Kiek žmonių, turinčių tokius pačius interesus Jūs pažįstate ir bendraujate?**
Žmonės, kuriuos Jūs sutinkate darbovietėje ir laisvalaikio metu
- nei vieno
 1 – 2
 3 – 5
 6 – 10
 11 – 15
 daugiau negu 15
- 2. Kiek savo pažįstamų Jūs sutinkate ar su keliais iš jų pasikalbate per įprastą savaitę?**
Neskaičiuoti žmonių, kuriuos Jūs sutinkate atsitiktinai ir kurių Jūs daugiau nepamatysite pvz. pirkėjų parduotuvėje!
- nei vieno
 1 – 2
 3 – 5
 6 – 10
 11 – 15
 daugiau negu 15
- 3. Kiek Jūs turite draugų, kurie galėtų užėiti pas Jus bet kuriuo metu ir jaustis kaip namuose? Jie nekreips dėmesio, kad pas Jus nesutvarkyta, ar Jūs valgėte.**
Artimi giminės nesiskaito.
- nei vieno
 1 – 2
 3 – 5
 6 – 10
 11 – 15
 daugiau negu 15
- 4. Kiek šeimoje ir tarp Jūsų draugų yra tokių, su kuriais Jūs galite kalbėti atvirai, negalvodamas?**
- nei vieno
 1 – 2
 3 – 5
 6 – 10
 11 – 15
 daugiau negu 15
- 5. Ar yra ypatingas žmogus, kuris, Jūsų manymu iš tikrųjų parems Jus?**
- ne
 taip, bet man tai nereikalinga
 taip
- 6. Ar yra ypatingas žmogus, kuris jaučiasi esantis labai arti Jūsų?**
- ne
 nesu tikras
 taip
- 7. Ar yra toks žmogus, kuriam Jūs galite išsipasakoti, kai jaučiatės laimingas? Ar yra žmogus, kuris jaustųsi laimingas vien tik todėl, kad Jums gera?**
- taip
 ne
- 8. Ar turite kam išsakyti savo slapčiausius jausmus ir išsipasakoti?**
- taip
 ne
- 9. Ar būna taip, kad Jus kas nors apkabina, reikšdamas savo paguodą ar paramą?**
- ne
 taip
- 10. Ar Jūs manote, kad namiškiai ir kiti žmonės vertina tai, ką Jūs jiems darote?**
- taip
 nepakankamai
 visai ne
- 11. Kiek Jūsų aplinkoje yra žmonių, kurių Jūs lengvai galite ko nors paprašyti? Pvz. tokie geri pažįstami, kad Jūs galite pasiskolinti koki nors įrankį, arba virtuvės prietaisą.**
- nei vieno
 1 – 2
 3 – 5
 6 – 10
 11 – 15
 daugiau negu 15
- 12a. Ar be namiškių yra kiti asmenys, į kuriuos Jūs galite kreiptis, sunkumams iškilus? Toks žmogus su kuriuo lengva bendrauti, kuriuo pasitikite ir**
- taip
 ne

kuris tikrai padės, kai reikės pagalbos?

12b. Kiek tokių žmonių pažįstate?

- nei vieno
- 1 – 2
- 3 – 5
- 8 – 10
- 11 – 15
- daugiau negu 15

13. Ar Jums neatrodo, kad Jums visiškai nerūpi, kas vyksta aplinkui?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

14. Ar teko kada nors stebėtis elgesiu tų žmonių, kuriuos rodos gerai pažinojote?

1 2 3 4 5 6 7

niekada

labai dažnai

15. Ar teko nusivilti žmogumi, kuriuo pasitikėjote?

1 2 3 4 5 6 7

niekada

labai dažnai

16. Ar Jūs manote, kad Jūsų gyvenimas iki šiol

1 2 3 4 5 6 7

neturėjo jokios
prasmės ir tikslo

turėjo aiškų tikslą ir buvo
labai prasmingas

17. Ar Jums neatrodo, kad su Jumis neteisingai elgiamasi?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

18. Ar Jūs turite jausmą, kad Jūs esate neįprastoje (keistoje) situacijoje ir nežinote, kaip pasielgti?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

19. Darbas, kuri Jūs atliekate kasdien, Jums yra:

1 2 3 4 5 6 7

gilaus džiaugsmo
ir pasitenkinimo
šaltinis

skausmo ir
nuobodumo
šaltinis

20. Ar Jūs jaučiate turįs labai nepastovius, besikeičiančius jausmus, mintis?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

21. Ar atsitinka taip, kad Jums kyla jausmai, kurių nenorėtumėte turėti?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

22. Daug žmonių – net ir turinčių stiprų charakterį, tam tikrose situacijose kartais jaučiasi kaip pralaimėję (kažką praradę). Ar dažnai Jūs taip jautėtės?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

23. Kai kas nors atsitikdavo, ar Jūs pajusdavote, kad:

1 2 3 4 5 6 7

pervertinote, ar
neįvertinote
pakankamai to įvykio
svarbos

teisingai
įvertinote
viso to esmę

24. Kaip dažnai Jūs jaučiate, kad yra mažai prasmės tame, ką Jūs darote kasdien?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

25. Kaip dažnai Jūs jaučiate, kad Jūs nesate tikras, kad galite susivaldyti (save sukontroliuoti)?

1 2 3 4 5 6 7

labai dažnai

labai retai
ar niekada

26. Kaip Jūs įvertintumėte savo gyvenimą. Viršutinė pakopa (10) – nuostabiausias Jūsų įsivaizduojamas gyvenimas. Apatinė pakopa (1) – blogiausias gyvenimas.

1. Kurioje pakopoje Jūs dabar esate?
2. Kurioje pakopoje Jūs buvote prieš metus?
3. Jeigu Jūs galvojate apie ateitį, tai kurioje pakopoje Jūs save įsivaizduojate po metų?

27. Kaip apibūdintumėte savo sveikatą?

- a. Puiki
- b. Gera
- c. Gana gera
- d. Nelabai gera
- e. Visai negera

28. Kokia Jūsų sveikata, lyginant su kitų Jūsų amžiaus žmonių sveikata?

- a. Geresnė
- b. Tokia pati
- c. Blogesnė

29. Tikimybė, kad sveikas Jūsų amžiaus žmogus susirgs kokia nors sunkia liga per artimiausius 5 - 10 metų.

- a. Labai didelė
- b. Didelė
- c. Maža

30. Ar Jūs manote, kad profilaktinių priemonių pagalba, sveikas Jūsų amžiaus žmogus gali sumažinti tikimybę susirgti rimta liga?

- a. Taip, labai gali būti
- b. Įmanoma
- c. Neįmanoma

31. Žmonių nuomonės apie sveikatą ir ligas labai įvairios. Kuriam iš šių teiginių Jūs pritariate?

- a. Jei žmogus suserga, jis nieko nebegali padaryti
- b. Sveikata yra laimės dalykas, tačiau kai kada galima imtis tam tikrų priemonių, neleidžiančių ligai vystytis
- c. Yra neabejotinai daug dalykų, kuriuos darydami galime pagerinti savo sveikatą

I. Ką Jūs manote apie save?

a. Kuris iš šitų pasakymų teisingas?

(Pateikti 1 atsakymą į kiekvieną klausimą)

- 1. Aš labai jautrus kritikai
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 2. Aš labai greitai susijaudinu, kai mano ambicijos sukyla
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 3. Net mažiausios kliūtys mane erzina
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 4. Kai darbą reikia kruopščiai atlikti, geriausiai, jei aš jį atlieku pats
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 5. Man patinka nurodinėti kitiems jų klaidas
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 6. Būti šiek tiek geresniu ar sumanesniu negu kiti, man yra kaip azartinis žaidimas
 - visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
- 7. Aš galiu stipriai susijaudinti, jei kas nors trukdo man vykdyti užduotis

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

8. Aš pykstu ant kitų dažniau negu derėtų

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

9. Kai dirbu, aš lengvai atsiduriu situacijoje, kai man pritrūksta laiko

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

10. Dažnai atsitinka, kad atsibudęs pradėdau galvoti apie problemas darbe

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

11. Aš pykstu, kai nepasisėka atlikti darbo visu 100%

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

12. Niekam kitam neleidžiu daryti mano darbų

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

13. Aš labai nusiviliu, jei mano darbas nepilnai įvertinamas

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

14. Aš pasiuntu (labai supykstu), jei manęs nesupranta iš pirmo karto

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

15. Grįžęs namo lengvai atsipalaiduojau nuo darbo

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

16. Mano žmona/vyras/sugyventinis sako, kad esu per daug pasinėręs į darbą

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

17. Apie tai, kad darbas man pasisekė pirmiausia suprantu iš to, kad rezultatas pranoksta mano lūkesčius

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

18. Pasitaikius sunkiai užduočiai, mano bendradarbiai sako apie mane: jis/ji susitvarkys

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

19. Aš visą laiką noriu kontroliuoti situaciją

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

20. Šeima yra svarbiau, nei darbas

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

21. Aš labai supykstu, jei kuris nors iš bendradarbių, mums kartu dirbant, suabejoja mano kompetencija

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

22. Manęs netrikdo įprastos darbo rutinos pasikeitimai

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

23. Aš visada stengiuosi padaryti daugiau, negu įmanoma

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

24. Aš niekada nesiskiriu su darbu, apie jį galvoju net vakarais

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

25. Net mažiausias pagyrimas paskatina mane dirbti

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

26. Aš nesijaudinu, jei kiti geresni nei aš

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

27. Man patinka, kad kartais man trukdo ir aš negaliu dirbti

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

28. Aš visada galvoju apie kitą užduotį

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

29. Jei atidedu neįvykdytą užduotį rytojui, naktį negaliu miegoti

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

Čia pateikiami teiginiai, kuriuos Jūs turite įvertinti, pasirinkdami vieną iš galimų atsakymų, geriausiai atitinkanti Jūsų įprastą elgseną ir savijautą. Taigi, galvokite, ne apie tai kaip Jūs jaučiatės dabar, bet apie tai, kaip Jūs dažniausiai jaučiatės. Atsakinėkite greitai, per daug nesvarstydami.

b. Kaip šie teiginiai atitinka Jūsų nuomonę?

1. Pradėdamas dirbti naują darbą, mėgstu iš anksto ką nors susižinoti apie savo būsimus artimiausius bendradarbius

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

2. Kai mane kas nors įskaudina ar užgauna, noriu tuoj pat atsikirsti tuo pačiu, bent jau iš principo

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

3. Aš geriau nesisveikinu su savo senais mokyklos draugais ar seniai matytais pažįstamais, jeigu jie pirmieji su manimi nepasisveikina

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

4. Man dažnai tekdavo tokie viršininkai, kurie žinojo ir mokėjo mažiau negu aš

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

5. Manau, daugelis žmonių perdeda, kalbėdami apie savo sunkumus, nes taip tikisi sulaukti užuojautos ir paramos iš kitų

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

6. Reikia labai daug įtikinėjimų, norint įrodyti pašnekovui kokią nors tiesą

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

7. Manau, kad daugelis žmonių, norėdami geriau susitvarkyti, griebiasi melo
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
8. Yra žmonių, nusiteikusių prieš mane
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
9. Dauguma giminių mane vertina
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
10. Žmonės yra sąžiningi visų pirma todėl, kad jie bijo demaskavimo
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
11. Nenorėdami pralaimėti žmonės griebiasi nedorų metodų ir gauna naudos ar pelno
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
12. Man dažnai norisi sužinoti, kokių slaptų minčių turi asmuo, rodantis man savo draugiškumą
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
13. Mane erzina, kai žmonės prašo pagalbos arba kitaip trukdo tuo metu, kai aš darau kažką svarbaus
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
14. Aš manau, kad su manimi dažnai buvo neteisingai elgiamasi
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
15. Man nepatinka dovanoti pinigų labdariniams tikslams
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
16. Kai kurie mano šeimos nariai turi bjaurių ir erzinančių įpročių
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne

17. Žmonės linkę nesuprasti mano elgesio
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
18. Aš sugebu draugiškai elgtis su žmonėmis, kurie, mano manymu, daro neleistinus dalykus
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
19. Aš nesmerkiu tų žmonių, kurie, ką tik pavyksta, bando pasiimti iš pasaulio sau
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
20. Žmonės abejingi savo artimiesiems
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
21. Geriausiai yra niekuo nepasitikėti
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
22. Nesmerkiu to žmogaus, kuris išnaudoja kitą, leidžiantį save išnaudoti, asmenį
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
23. Aš dažnai jaučiu, kad nepažįstamieji žiūri į mane labai kritiškai
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
24. Dauguma žmonių įsigyja draugų, kad galėtų juos išnaudoti
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
25. Aš esu tikras, kad apie mane nemažai "kalbama"
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
26. Paprastai aš nekalbinu kitų žmonių, jei jie pirmieji manęs nepakalbina
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne

27. Daugeliui žmonių, širdies gilumoje, nepatinka stengtis kitų labai
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
28. Aš linkęs atsargiai elgtis su tais žmonėmis, kurie yra draugiškesni, negu turėtų būti
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
29. Aš dažnai nusiviliu
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
30. Dažnai sutinku žmones, kurie sakosi esą ekspertai, bet žino ne daugiau už mane
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
31. Jaučiuosi nevykėliu, kai girdžiu kalbas apie pažįstamų pasisekimą
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
32. Man sunku supykti
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
33. Žmonės paprastai reikalauja daugiau pagarbos savo pačių teisėms, negu jos parodo kitiems
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
34. Aš paprastai esu nuošalyje visų kalbų ir paskalų, kylančių toje grupėje, kuriai aš priklausau
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
35. Dažnai teko patirti kitų žmonių pavydą dėl to, kad aš turiu idomesnių idėjų ir pasiūlymų kurių negalėjo sugalvoti kiti žmonės
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
36. Kartais aš laikiausi nuošalyje nuo kitų žmonių, bijodamas, kad galiu ką nors pasakyti ar padaryti, dėl ko vėliau tektų gailėtis
- visai teisinga
 - beveik teisinga

- nevisai teisinga
 - visai ne
37. Man patiktų, kad mano skriaudėjas (įžeidėjas) patirtų tą patį, ką aš ar kiti yra iš jo blogo patyrę.
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
38. Kartais griežtai elgiausi su žmonėmis, kurie buvo nemalonūs ar nedraugiški
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
39. Kai kurių žmonių aš taip nekenčiu, kad net mėgaujuosi mintimi apie tai, kaip jie kentėtų už savo darbus
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
40. Dažnai jaučiu, kad bet ką galėčiau padaryti, įrodinėdamas manimi netikinčiam pašnekovui savo tiesą
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
41. Man artimiausias žmogus iš vaikystės (pvz. tėvas, patėvis) labai griežtai su manimi elgėsi
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
42. Man patinka leisti aplinkiniams paspėlioti, ką aš toliau ketinu daryti
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
43. Aš net nebandau slėpti savo nepasitenkinimo ar gailesčio vien tik tam, kad apsaugočiau žmogų ir neparodyčiau jam, ką iš tiesu apie jį galvoju
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
44. Paprastai, aš atkakliai ginu savo nuomonę
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne
45. Aš dažnai klausiu žmonių patarimo
- visai teisinga
 - beveik teisinga
 - nevisai teisinga
 - visai ne

46. Aš turėjau daug viršininkų, kurie taip tvarkė reikalus, kad garbėtektų jiems, o nesėkmės atveju, kalti liktu pavaldiniai

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

47. Mane gana lengva paveikti netgiir tada, kai, mano manymu, turiu labai aiškią savo nuomone vienu ar kitu klausimu

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

48. Kartais aš esu tikras, kad kiti žmonės gali skaityti mano mintis

- visai teisinga
- beveik teisinga
- nevisai teisinga
- visai ne

K. Keletas klausimų apie Jūsų asmenybę

a. Ar dažnai per paskutiniuosius mėnesius:

1. Jautėtės labai pavargęs?

- niekada
- kartais
- dažnai

2. Pastebėjote, kad praradote pasitikėjimą savimi?

- niekada
- kartais
- dažnai

3. Jautėte, kad nepadarote tiek daug, kiek paprastai?

- niekada
- kartais
- dažnai

4. Manėte, kad atsidūrėte aklavietėje?

- niekada
- kartais
- dažnai

5. Buvote labiau abejingas viskam, negu paprastai?

- niekada
- kartais
- dažnai

6. Jautėte, kad nesugebate spręsti kasdieninių problemų, kaip visada?

- niekada
- kartais
- dažnai

7. Manėte, kad Jūsų kūnas - tai beįsikraunanti baterija?

- niekada
- kartais
- dažnai

8. Jautėtės prislėgtas ir tarsi "po ledu"?

- niekada

- kartais
- dažnai

9. Manėte, kad nesugebate savęs taip gerai kontroliuoti, kaip visada?

- niekada
- kartais
- dažnai

10. Manėte, kad galėtumėte daugiau padaryti, jei nesijaustumėte toks silpnas ir bejėgis?

- niekada
- kartais
- dažnai

11. Pastebėjote, kad pradžia ("įsivažiavimas") užtruko ilgiau negu paprastai?

- niekada
- kartais
- dažnai

12. Pastebėjote, kad galvojote apie mirusius draugus ir gimines?

- niekada
- kartais
- dažnai

13. Jautėte, kad niekas negali Jums padėti išspręsti Jūsų giliausių problemų?

- niekada
- kartais
- dažnai

14. Buvote mažiau patenkintas savimi?

- niekada
- kartais
- dažnai

15. Jautėte, kad sumažėjo Jūsų sugebėjimas dirbti naudingą darbą?

- niekada
- kartais
- dažnai

16. Pastebėjote, kad lengvai susierzinate dėl menkniekių?

- niekada
- kartais
- dažnai

17. Kartais norėjote būti mirusiu?

- niekada
- kartais
- dažnai

18. Pastebėjote, kad neturite pakankamai energijos išeiti iš namų ką nors aplankyti?

- niekada
- kartais
- dažnai

19. Pastebėjote, kad pasidarėte tylesnis ir ramesnis?

- niekada
- kartais
- dažnai

b. Kiek Jūs pritariate šiems teiginiams?

1. Aš jaučiu, kad esu labai vertingas asmuo, bent jau palyginus su kitais

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

2. Aš jaučiu, kad turiu daug gerų savybių

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

3. Kai viską apibendrinu, aš linkęs manyti, kad man nepavyko

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

4. Aš galiu daryti darbus lygiai taip pat gerai, kaip ir dauguma kitų

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

5. Aš jaučiu, kad neturiu daug kuo didžiulis

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

6. Aš save vertinu teigiamai

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

7. Plačiąją prasme aš esu savimi patenkintas

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

8. Kartais aš manau, kad esu bevertis

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

9. Norėčiau labiau save gerbti

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

10. Kartais aš manau, kad aš nedaug kam esu tikęs (šiek tiek netikęs)

- visai ne
- nelabai pritariu
- pritariu
- labai pritariu

c. Ar Jums tinka šie teiginiai?

1. Iš tiesu nėra jokio būdo išspręsti savo problemų

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

2. Kartais man atrodo, kad aš blaškausi gyvenime

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

3. Aš beveik nekontroliuoju to, kas su manimi darosi

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

4. Jeigu aš apsisprendžiu, aš galiu padaryti beveik viską

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

5. Kai gyvenime išskyla problemų, dažnai jaučiuosi bejėgis

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

6. Mano ateitis didžia dalimi priklauso nuo manęs

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

7. Norėdamas pakeisti savo gyvenimą, aš ne tiek jau daug galiu padaryti pats

- visai ne
- nelabai
- beveik teisinga
- teisinga

d. 1. Kokie dalykai ir įvykiai Jūsų gyvenime yra labiausiai teigiami (kurie daro Jus laimingais ar daro Jūsų gyvenimą vertą gyventi)?

2. Kokie dalykai ir įvykiai Jūsų gyvenime yra labiausiai neigiami (kas verčia Jus būti susirūpinusiais ar prislėgtais)?

Gal būt, mes dar kartą į Jus kreipsimės, ar Jūs tam neprieštarosite? ne taip

NURODYMAI: Šiame blanke yra kelios tvirtinimų grupės. Prašome nuodugniai perskaityti kiekvieną grupę. Po to kiekvienoje grupėje išrinkite tą tvirtinimą, kuris geriausiai atitinka tai, **KA JŪS JAUČIATE KAIP TIK DABAR**. Jeigu keletas tvirtinimų grupėje tinka vienodai gerai, tuomet apibrėžkite aplink kiekviena tinkantį. Būkite atidūs ir perskaitykite visus tvirtinimus kiekvienoje grupėje prieš išrinkdami.

1. 0 Aš nesijaučiu liūdnas
1 Aš jaučiuosi liūdnas
2 Aš nuolat jaučiuosi liūdnas ir negaliu to jausmo atsikratyti
3 Aš jaučiuosi toks liūdnas ir nelaimingas, kad negaliu išverti
2. 0 Aš nesijaučiu ypatingai nusiminęs dėl ateities
1 Aš jaučiuosi nusiminęs dėl ateities
2 Aš jaučiu, kad neturiu ko tikėtis
3 Aš turiu jausmą, kad ateitis yra beviltiška ir kad niekas negali pagerėti
3. 0 Aš nesijaučiu esąs nevykėliu
1 Aš jaučiu, kad esu labiau nevykęs negu dauguma
2 Kai žiūriu atgal į savo gyvenimą, matau vien tik daugybę nesėkmių
3 Aš jaučiuosi esąs visiškai nevykęs asmuo
4. 0 Aš gaunu iš daiktų ir dalykų tiek pat pasitenkinimo, kaip ir anksčiau
1 Aš neturiu džiaugsmo iš daiktų, kaip anksčiau
2 Niekas man daugiau neteikia jokio pasitenkinimo
3 Aš esu nepatenkintas arba viskuo atsibodęs
5. 0 Aš nejaučiu jokių kaltės jausmų
1 Aš jaučiu kaltės jausmus didelę laiko dalį
2 Aš daugiausia jaučiu kaltę
3 Aš nuolat jaučiu kaltę
6. 0 Aš nesijaučiu pats savimi nusivylęs
1 Aš esu nusivylęs savimi
2 Aš bjauriuosi savimi
3 Aš neapkenčiu pats savęs
7. 0 Aš neturiu jokių savižudybės minčių
1 Aš turiu savižudybės minčių, bet to nepadaryčiau
2 Aš norėčiau nusižudyti
3 Aš nusižudyčiau, jei turėčiau galimybę
8. 0 Aš nesu praradęs domėjimosi kitais žmonėmis
1 Aš mažiau domiuosi kitais žmonėmis negu paprastai
2 Aš esu praradęs didumą savo domėjimosi kitais žmonėmis
3 Aš esu visiškai praradęs domėjimąsi kitais žmonėmis
9. 0 Aš darau sprendimus maždaug taip lengvai, kaip paprastai
1 Aš atidedu sprendimus dažniau negu paprastai
2 Man yra sunkiau apsispręsti negu anksčiau
3 Aš daugiau visai negaliu daryti sprendimų
10. 0 Aš nemanau, kad atrodau blogiau negu paprastai
1 Aš nerimauju, kad atrodau bjauriu ir nepatraukliu

- 2 Aš turiu jausmą, kad mano išvaizda yra pasikeitusi taip, jog atrodau bjauriu ir nepatraukliu
- 3 Aš manau, jog atrodau baisiai
11. 0 Aš galiu dirbti maždaug lygiai gerai, kaip ir anksčiau
- 1 Reikia didesnių pastangų pradėti ką nors veikti
- 2 Aš turiu labai smarkiai prisiversti ką nors veikti
- 3 Aš visiškai negaliu dirbti kokio nors darbo
12. 0 Aš nepavargstu labiau negu paprastai
- 1 Aš pavargstu lengviau negu paprastai
- 2 Aš beveik negaliu nieko veikti nepavargdamas
- 3 Aš esu per daug pavargęs ką nors veikti
13. 0 Mano noras valgyti nėra blogesnis negu paprastai
- 1 Mano noras valgyti nėra toks geras, kuks jis paprastai būna
- 2 Mano noras valgyti dabar yra daug blogesnis
- 3 Aš daugiau visai neturiu jokio noro valgyti

g