

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

**OKSIDACINIO STRESO VERTINIMAS PAGAL MALONDIALDEHIDO
KONCENTRACIJĄ KRAUJYJE IR RYŠYS SU PATIRIAMU
PSICHOSOCIALINIU STRESU**

Magistrantė DOVILĖ GATAVECKAITĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas

dr. Dovilė Karčiauskaitė

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja

hab.dr., prof. Z. A. Kučinskienė

leidžiama ginti

(parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

2017 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Streso sąvoka	7
1.2. Organizmo atsakas į lėtinį psichologinį stresą.....	7
1.3. Oksidacinis stresas	8
1.4. Laisvieji deguonies radikalai	9
1.5. Lipidų peroksidacija	10
1.6. Lipidų peroksidacijos produktai	11
1.7. Malondialdehidai. Cheminės savybės. Toksiškumas	11
1.8. Malondialdehido nustatymas biologiniuose mėginiuose	12
1.9. MDA tyrimai Lietuvoje ir pasaulyje.....	12
1.10. Aterosklerozė. Rizikos veiksniai ir patogenezė.....	15
1.11. Psichosocialinio streso – aterosklerozės - oksidacinio streso ryšys	18
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	19
2.1. Tiriamoji medžiaga.....	19
2.1.1. Tiriamoji grupė	19
2.1.2. Kraujo paėmimas, mėginio paruošimas ir laikymas.....	19
2.2. Tyrimo metodai.....	19
2.2.1. Lipidų apykaitos rodiklių nustatymas.....	19
2.2.2. C- reaktyvaus baltymo (CRB) koncentracijos nustatymas	21
2.2.3. Malondialdehido koncentracijos nustatymas kraujo serume	21
2.2.3.1. Aparatūra	22
2.2.3.2. Reagentai	22
2.2.3.3. Darbinių tirpalų gamyba	23
2.2.3.4. Mėginio paruošimas chromatografiniai analizei.....	23

2.3.3.5. Malondialdehido koncentracijos skaičiavimas	24
2.4. Psichosocialinis testas streso lygiui nustatyti	24
2.5. Antropometrinių duomenų skaičiavimas	25
2.6. Statistinė duomenų analizė	26
3. TYRIMO REZULTATAI.....	27
3.1. Tiriamieji	27
3.2. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas jaunų (25 – 39 metų) ir vidutinio (40 – 55 metų) amžiaus vyrų grupėse.	30
3.3 Malondialdehido koncentracijos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys.....	32
3.4. Malondialdehido koncentracijos ir uždegimo žymens C- reaktyvaus baltymo ryšys.	36
3.5. Malondialdehido koncentracijos ir kūno masės indekso ryšys.....	37
3.6. Malondialdehido koncentracijos ir rūkymo ryšys	38
3.7. Malondialdehido koncentracijos ir psichosocialinio streso ryšys.....	40
REZULTATŲ APTARIMAS.....	47
IŠVADOS	51
SUMMARY.....	52
LITERATŪROS SĄRAŠAS	53

SANTRUMPOS

AKTH – adrenokortikotropinis hormonas

B-Ch – bendrasis cholesterolis

CRB – C – reaktyvusis baltymas

DTL – didelio tankio lipoproteinai

DTL-Ch – didelio tankio lipoproteinų cholesterolis

HPLC – efektyvioji skysčių chromatografija

KAH – kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas

KMI – kūno masės indeksas

LR – laisvieji radikalai

MDA – malondialdehidas

MTL – mažo tankio lipoproteinai

MTL-Ch – mažo tankio lipoproteinų cholesterolis

MS – metabolinis sindromas

NADH/NADPH – nikotinamido adenino dinukleotidas (redukuotas)/ nikotinamido adenino dinukleotido fosfatatas (redukuotas)

PHA – pagumburio – hipofizės – antinksčių ašis

ROS – reaktyviosios deguonies formos

SAŠ – simpatinės nervų sistemos – antinksčių širdies sistema

TAG - triacilgliceroliai

TBA – tiobarbitūrinė rūgštis

ĮVADAS

Lietuvoje mirtingumas nuo širdies ir kraujagyslių sistemos ligų užima pirmąją vietą tarp visų mirties atvejų. Vyrų mirtingumas nuo šių ligų beveik du kartus didesnis nei moterų [1]. Aterosklerozė yra daugiaveiksnė, kompleksinė liga, kurios pagrindinės klinikinės išraiškos yra miokardo infarktas, periferinių kraujagyslių liga, išeminis insultas. Vyresnis amžius, vyriška lytis, nutukimas, rūkymas, arterinė hipertenzija, cukrinis diabetas, MTL cholesterolio padidėjimas ir DTL cholesterolio padidėjimas yra aterogeniniai rizikos veiksniai, skatinantys šios ligos atsiradimą bei progresavimą [2, 3]. Naujausi duomenys teigia, kad aterosklerozinės plokštelės susidarymui būdinga ne tik lipidų sankaupos, bet ir uždegiminiai procesai. Padidėjusi nespecifinio uždegimo žymens, C – reaktyvaus baltymo, koncentracija yra pastebima pacientų, sergančių širdies ir kraujagyslių ligomis, tarpe [4]. Taip pat daugėja įrodymų, kad aterosklerozės patogenezei įtakos turi psichosocialiniai faktoriai, tokie kaip depresija, nerimas, nuolat patiriamas lėtinis stresas, įtampa, socialinės paramos trūkumas [5].

Aterosklerozės rizikos veiksniai yra susiję su padidėjusia laisvųjų radikalų gamyba. Padidėjęs jų kiekis organizme sukelia oksidacinį stresą – būseną, kurios metu tarp reaktyviųjų deguonies formų ir antioksidantų susidaro disbalansas. Oksidacinis stresas yra svarbus faktorius vėžio, širdies ir kraujagyslių ligų, neurodegeneracinių ligų bei įvairių psichikos sutrikimų patogenezei. Pirminiai reaktyviųjų deguonies formų taikiniai organizme yra lipidai [6 – 8]. Lipidų peroksidacijos metu susidarę oksiduoti mažo tankio lipoproteinai yra vieni iš pagrindinių komponentų, skatinantys aterosklerozinės plokštelės formavimąsi [3]. Vienas iš galutinių lipidų peroksidacijos produktų yra malondialdehidas. Malondialdehido, kaip oksidacinio streso žymens, koncentracijos nustatymas kraujo plazmoje, serume, šlapime bei kituose žmogaus organizmo skysčiuose taip pat ląstelėse ir audiniuose atspindi laisvųjų deguonies radikalų sukeltamų lipidų peroksidacijos produktų susidarymą [9, 10]. MDA ir kitų oksidacinių streso žymenų padidėjimas gali būti naudingas įvairių su juo susijusių ligų nustatymui, prevencijai bei gydymui.

Darbo tikslas:

Nustatyti oksidacinio streso žymens malondialdehido koncentraciją kraujo serume ir įvertinti jos ryšį su psichosocialinio streso ir aterosklerozę atspindinčiais rodikliais.

Darbo uždaviniai

1. Nustatyti malondialdehido koncentraciją sveikų jaunų (25 – 39) ir vidutinio amžiaus (40 – 55) vyrų kraujyje.
2. Įvertinti malondialdehido ir lipidų apykaitos rodiklių koncentracijos kraujyje sąsajas.
3. Įvertinti malondialdehido koncentracijos ir aterosklerozę atspindinčių rodiklių - uždegimo žymens C - reaktyvaus baltymo, kūno masės indekso ir rūkymo ryšį.
4. Įvertinti malondialdehido koncentracijos ir psichosocialinių streso veiksnių ryšį.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Streso sąvoka

Stresas - tai psichinės ir fiziologinės įtampos būseną, visuma organizmo apsauginių reakcijų, kurias sukelia žalingi aplinkos ar vidaus veiksniai. Streso teorijos kūrėjas, endokrinologas H. Selje, stresą apibūdino, kaip organizmo adaptacinių bei gynybinių reakcijų visumą, kylančią veikiant tam tikriems dirgikliams – stresoriams [11]. Stresorius galima išskirti į fiziologinius (pvz.: karštis, šaltis, trauma, infekcija, hipoksija) ir psichologinius (pvz.: nerimas, baimė, nusivylimas, labai didelis džiaugsmas) [12]. Stresas gali turėti tiek teigiamą, tiek neigiamą poveikį. Teigiamas stresas (eustresas), pavyzdžiui, įsimylėjimas ir vedybos, naujagimio gimimas, namo pirkimas ir kt., teigiamai veikia individo ar grupės žmonių gyvenimą. Neigiamas stresas (distresas), pavyzdžiui, sutuoktinio mirtis, skyrybos, darbo praradimas ir kt., yra disfunkcinis individui ar grupei. Stresas, pagal jo poveikį, padarinius, mechanizmus ir veikimo trukmę, išskiriamas į ūmų, trunkantį nuo kelių minučių iki kelių valandų ir lėtinį, kuris gali tęstis nuo mėnesių iki metų [13]. Lėtinis stresas yra laikomas pačiu pavojingiausiu dėl jo nuolatinio ir užsitęsusio poveikio žmogaus elgesiui, emocinei ir psichologinei būsenai. Nuolat patiriami įvairūs psichologiniai stresoriai (pvz.: socialinė izoliacija, socialinės paramos trūkumas, socialinės gerovės nebuvimas darbe, namuose, šeimoje) kelia grėsmę ne tik žmogaus fizinei, bet ir psichologinei gerovei. Ilgalaikis lėtinis stresas gali sukelti nerimą ir depresiją, valgymo sutrikimus, nemigą, nuovargį, apatiškumą, teigiamų emocijų trūkumą [5]. Dažnai stresas turi įtakos ir gyvenimo būdo pokyčiams (padidėja tabako, alkoholio ir narkotikų vartojimas, sumažėja fizinė veikla, sutrinka miegas), žmonės yra linkę mažiau rūpintis savimi, kas tiesiogiai turi įtakos jų sveikatai [14].

1.2. Organizmo atsakas į lėtinį psichologinį stresą

Dėl stresorių pakinta homeostazės, palaikančios organizmo fiziologinių sistemų stabilumą, veikla. Su homeostaze susijęs terminas alostazė (angl. *allostasis*) apibūdina organizmo gebėjimą per įvairius fiziologinius procesus reaguoti į fizinius ir psichologinius poreikius. Toks organizmo atsakas gali būti svarbus norint išsaugoti gyvybę, paruošti kūną intensyviai fiziniam krūviui, pavyzdžiui, bėgimui ar kovai. Nuolatinis alostatinės sistemos aktyvavimas gali turėti fiziologinių pasėkmių ir padidinti riziką sirgti lėtinėmis ligomis (nutukimu, ateroskleroze, hipertenzija). „Alostatinis krūvis“ (angl. *allostatic load*) apibūdina organizmo „susidėvėjimą“ dėl kasdieninio prisitaikymo prie fizinio ir emocinio streso [15]. Organizme, kaip atsakas į lėtinį psichologinį stresą, ypatingai reaguoja dvi endokrininės sistemos – pagumburio – hipofizės - antinksčių (PHA) ašis ir simpatinės nervų sistemos - antinksčių šerdies (SAŠ) sistema. Įvairūs stresoriai, sukeldami baimę bei nerimą, skatina pagumburį išskirti

kortikotropiną atpalaiduojantį hormoną (KAH). Kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas iš priekinės hipofizės dalies skatina išsiskirti adenokortikotropinį hormoną (AKTH). Pasiekęs antinksčius, AKTH stimuliuoja gliukokortikoidų (kortizolio), taip pat aldosterono ir antinksčių androgenų gamybą [15, 16]. Kortizolis, reaguojant į stresą, reguliuoja daugybę fiziologinių procesų – vandens ir druskų homeostazę, kaulų ir kalcio metabolizmą, baltymų, riebalų ir angliavandenių metabolizmą, gliukoneogenzę. Šis antinksčių žievės hormonas taip pat skatina visceralinių riebalų kaupimąsi, todėl lėtinis stresas yra vienas iš nutukimo rizikos veiksnių [14, 15]. Simpatinės nervų sistemos – antinksčių ašis atpalaiduoja katecholaminus, tam tikrus augimo hormonus ir neuropeptidus. Katecholaminai kartu su autonomine nervų sistema reguliuoja širdies ir kraujagyslių, plaučių, kepenų, griaučių raumenų veiklas. Stresas taip pat turi didelį poveikį imuninės sistemos veiklai. Imuninės sistemos veikla streso metu yra stipriai sąlygojama sudėtingų centrinės nervų sistemos – endokrininės ir imuninės sistemos sąveikų. Nors šios sistemos yra skirtos organizmui prisitaikyti ir susidoroti su grėsmėmis, psichologinio streso metu atsipalaiduojant SAŠ ir PHA ašių hormonams yra pakeičiama imuninės sistemos ląstelių veikla. Sumažėja NK kiekis, susilpnėja T ir B limfocitų atsakas, pakinta citokinų gamyba, todėl padidėja infekcijų rizika, ilgiau sveikstama po ligų, blogiau gija žaizdos. Prailgėjęs ar nuolat pasikartojantis PHA ir SAŠ sistemų aktyvinimas sutrikdo imuninės sistemos ląstelių kontroliuojamas fiziologines sistemas, todėl didėja rizika susirgti infekcinėmis, autoimuninėmis, širdies ir kraujagyslių ligomis, tam tikromis vėžio rūšimis, cukriniu diabetu, alergijomis [14 – 16].

1.3. Oksidacinis stresas

Oksidacinis stresas – tai organizmo būseną, kurios metu sutrinka pusiausvyrą tarp reaktyviųjų deguonies formų (angl. *reactive oxygen species*, (ROS)) ir antioksidantų. Šio proceso metu dažnai yra nusilpę apsauginiai ląstelių mechanizmai. Apsauginį vaidmenį atlieka fermentinė sistema (pavyzdžiui, superoksido dismutazė, glutationo peroksidazė) bei nefermentinė sistema – antioksidantai (vitaminai, karotenai) [6, 17, 18]. Tam tikri ROS kiekiai yra svarbūs daugeliui biologinių procesų – apoptozei, transkripcijos faktorių aktyvacijai, jos dalyvauja ląstelės signaliniuose keliuose. Tačiau per didelis pasigaminusių reaktyviųjų deguonies formų kiekis organizmui yra žalingas – jos gali pažeisti ląstelių membranas, baltymus, DNR, todėl ilgalaikis oksidacinis stresas gali sukelti ląstelių disfunkciją ar mirtį, pažeisti audinius bei organus. Nors oksidacinis stresas veikia daugelį biologinių molekulių, bet labiausiai pažeidžiama yra lipidinių medžiagų grupė [6, 10, 17]. Ypatingai jautrios oksidaciniam stresui yra smegenys, dėl didelio polinesočiųjų riebalų rūgščių kiekio jose, didelio deguonies suvartojimo, didelės geležies koncentracijos ir mažo antioksidantų kiekio. Oksidacinio streso sukelti pokyčiai smegenų struktūroje gali būti susiję su įvairiais psichikos sutrikimais – psichoze, didžiuoju

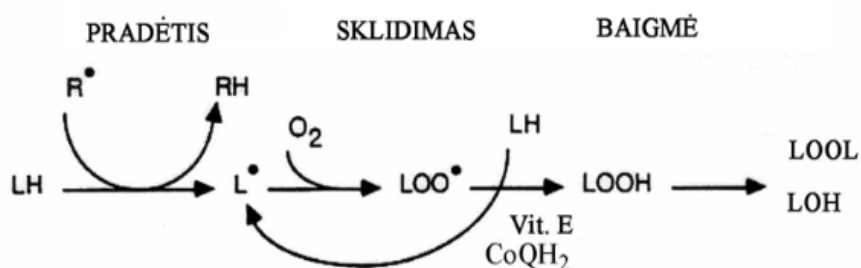
depresijos sutrikimu [6]. Yra nustatyta, kad didelis oksidacinio streso kiekis yra susijęs su tam tikromis ligomis - širdies ir kraujagyslių, neurodegeneracinėmis, cukriniu diabetu, vėžiu, senėjimu - arba prisideda prie šių ligų progresavimo [17, 19]. Įvairių pataloginių procesų – uždegimo, navikinio proceso, hipoksijos, aterosklerozės, senėjimo - metu organizme gaminasi dideli kiekiai laisvųjų radikalų ir žalingai veikia organizmą [20]. Oksidacinio streso poveikis gali būti išreikštas ląstelėje besikaupiančiais peroksidais (pvz.: lipidų peroksidais) arba per šalutinius produktus, tokius kaip malondialdehidas ir per oksiduotą glutationą [21].

1.4. Laisvieji deguonies radikalai

Molekulinis deguonis O_2 yra būtinas gyvybiniams procesams. Įprastai deguonis yra visiškai redukuojamas iki vandens, prisijungdamas keturis elektronus. Deguonis sudaro aerobinių organizmų gyvenimo pagrindą, tačiau jo dariniai kartu gali būti ir toksiški [18, 22]. Įvairių fiziologinių ir pataloginių procesų metu organizme deguonis gali būti transformuojamas į tarpines toksines jo atmainas, kurios yra vadinamos reaktyviosiomis deguonies formomis (ROS) ar laisvaisiais radikalais (LR) [20]. Laisvasis radikalas – tai atomai ar molekulės savo valentiniame (išoriniame) sluoksnyje turintys vieną ar daugiau nesuporuotų elektronų [21]. Laisvieji radikalai yra labai nestabilūs, todėl jie yra linkę sąveikauti su ląstelių struktūromis, prisijungdami elektronus ir taip pakeisdami atomų ir molekulių cheminį aktyvumą. Tokie dariniai tampa daug reaktyvesni, palyginus su jų neradikalinėmis formomis [19, 21]. Biologiškai pavojingiausi laisvieji deguonies radikalai yra superoksido anijono radikalas ($O_2^{\cdot-}$), vandenilio peroksidas (H_2O_2), singuletinis deguonis (1O_2), hidroksilo radikalas ($\cdot OH$), azoto oksidas ($NO\cdot$), hidroperoksilo radikalas ($HOO\cdot$) [18, 20]. ROS gamybą įtakoja endogeniniai ir egzogeniniai veiksniai. Endogeniniai ROS šaltiniai yra mitochondrijos, endoplazminis tinklas, peroksisomos. Mitochondrijose reaktyviosios deguonies formos susidaro oksidacinio fosforilavimo metu (tai pagrindinis endogeninių laisvųjų radikalų susidarymo šaltinis). Endoplazminiame tinkle laisvieji radikalai susidaro fagocitozės metu aktyvinant fagocituojančios ląstelės, kurios baktericidiškai veikia mikrobus taip pat fermentinėms sistemoms sąveikaujant su nuodingomis ar svetimomis medžiagomis. Peroksisomose, oksidazių katalizuojamų reakcijų metu, pasigamina H_2O_2 . Taip pat *in vivo* laisvieji radikalai susidaro įvairių fermentinių, oksidacijos - redukcijos reakcijų metu (pvz.: metabolizuojant etanolį hepatocituose, vykstant polinesočiųjų riebalų rūgščių oksidacijai) ar biologiškai aktyvių medžiagų (katecholaminų, hidrochinonų) irimo autooksidacijos metu [18, 19, 23]. *In vivo* ROS ar LR susidarymą sukelia ir įvairūs egzogeniniai veiksniai - jonizuojanti spinduliuotė, ultravioletiniai bei rentgeno spinduliai, tabako dūmai, patogeninės infekcijos, aplinkos toksinai, cheminės medžiagos, sunkieji metalai, vaistai, maisto sudedamosios dalys [20, 23].

1.5. Lipidų peroksidacija

Lipidai yra pagrindiniai ląstelių membranų komponentai, palaikantys jų struktūrą ir reguliuojantys jų funkcijas. Ląstelių membranų sudėtyje yra didelis kiekis fosfolipidų, savo sudėtyje turinčių polinesočiųjų riebalų rūgščių ir laisvojo cholesterolio. Šie lipidai yra pirminiai reaktyviųjų deguonies formų taikiniai. Oksiduoti lipidai yra susiję su įvairiomis patologinėmis būklėmis [7]. Lipidų peroksidacija – tai procesas, kurio metu oksidantai (laisvieji radikalai) ar neradikalinės medžiagos atakuoja lipidus, turinčius dvigubąjį anglis-anglis ryšį (C=C). Pagrindiniai lipidų peroksidacijos substratai yra polinesočiosios riebalų rūgštys, kurių sudėtyje yra du ar daugiau dvigubųjų ryšių. Jos yra skirstomos į omega-3 (n-3) ir omega-6 (n-6) riebalų rūgštis, priklausomai nuo paskutinio dvigubąjo ryšio padėties, susijusios su molekulės galine metilo grupe. Vyraujanti n-6 riebalų rūgštis yra arachidono rūgštis, kuri fermentinės peroksidacijos metu redukuojama iki prostaglandinų, leukotrienų, tromboksanų ir kitų ciklooksigenazių, lipooksigenazių, ar kitų iš citochromo P-450 susidariusių produktų [23]. Šios polinesočiosios riebalų rūgštys yra gausu smegenyse, ląstelių membranose, kepenyse, raumenyse. Jos sudėtyje yra daug nepetraukiamų metileno grupę turinčių dvigubųjų ryšių, kurių vandenilius ir atakuoja laisvieji radikalai [19]. Lipidų peroksidacijos procesas susideda iš trijų etapų: pradėties (angl. – *initiation*), sklidimo (angl. – *propagation*) ir baigmės (angl. – *termination*) [7, 23, 24]. Lipidų peroksidacijos etape, prooksidantas, pavyzdžiui, hidroksilo radikalas, atima H iš polinesočiosios riebalų rūgštis ir susidaro lipidinis radikalas L \cdot . Sklidimo etape lipidinis radikalas L \cdot greitai reaguoja su deguonimi ir susidaro lipidinis peroksiradikalas (LOO \cdot). Toliau lipidinis peroksiradikalas (LOO \cdot) atima H iš kitos riebalų rūgštis, paversdamas ją lipidiniu radikalumu L \cdot , o pats virsta hidroperoksiradikalumu (LOOH). Tolesnė reakcijų grandinė tęsiama tol, iki kol neįvyksta baigmės reakcija. Baigmės etape, antioksidantai, pavyzdžiui, vitaminas E atiduoda H lipidiniam peroksiradikalui (LOO \cdot), pats virstamas vitamino E radikalumu, kuris reaguoja su kitu (LOO \cdot) taip susidarant neradikaliniams produktams [23, 24].



1 pav. Grandininė lipidų peroksidacijos reakcija ir jos baigmė [24].

1.6. Lipidų peroksidacijos produktai

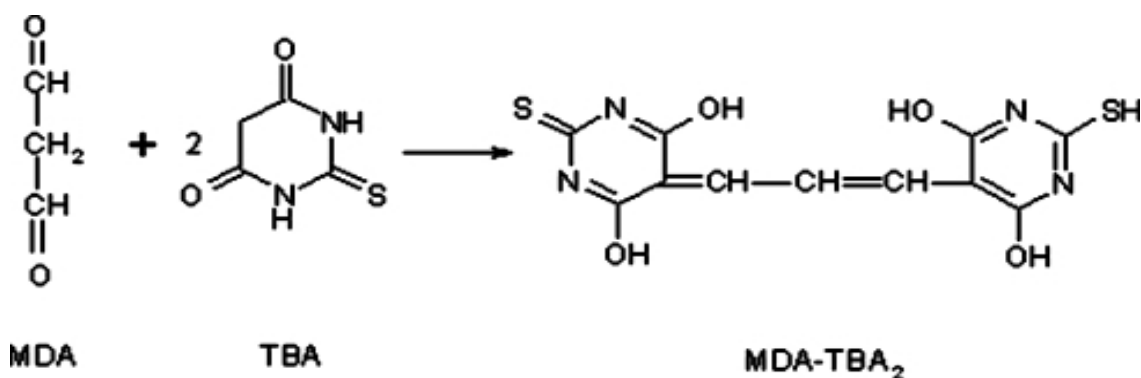
Oksidacinio streso sukeltos grandininės lipidų peroksidacijos reakcijos metu pasigamina įvairūs oksiduoti junginiai. Pagrindiniai pirminiai lipidų peroksidacijos produktai yra lipidų hidroperoksidai (LOOH), kurie pasižymi ir didžiausiu toksiškumu. Lipidų peroksidai, susidarę iš polinesočiųjų riebalų rūgščių yra nestabilūs. Jie lengvai suyra ir iš jų pasigamina įvairūs aldehydai, kurie yra antriniai lipidų peroksidacijos produktai - malondialdehidai (MDA), propanalis, heksanalis, 4-hidroksinonenalis (4-HNE) [19, 22, 25]. Lipidų peroksidacijos proceso metu susidaręs malondialdehidai pasižymi stipriausiu mutageniniu poveikiu, o 4 - hidroksinonenalis yra pats toksiškiausias. Malondialdehidai yra pagrindinis arachidono rūgšties apykaitos produktas. *In vivo*, fermentinės reakcijos metu, MDA gali susidaryti kaip šalutinis produktas tromboksano A₂ biosintezės metu, kuris yra biologiškai aktyvus arachidono rūgšties metabolitas. Taip pat MDA gali susidaryti ir nefermentinių procesų metu, nuo deguonies radikalų priklausomoje reakcijoje iš biciklinio endoperoksido, kurio pagrindinis pirmtakas yra arachidono rūgštis [23].

1.7. Malondialdehidai. Cheminės savybės. Toksiškumas

Malondialdehidai - (MDA, OHC-CH₂-CHO) polinesočiųjų riebalų rūgščių, taip pat ir arachidoninės rūgšties, galutinis oksidacijos produktas, dažnai naudojamas kaip biologinis žymuo oksidacinio streso vertinimui. Šis junginys yra tirpus vandenyje, metanolyje ir etanolyje. MDA egzistuoja dviejose formose – laisvas ar kovalentiškai prisijungęs prie baltymų, nukleorūgščių, lipoproteinų ir amino rūgščių [25, 26]. Neutraliame ir šarminiame pH, MDA yra mažai chemiškai aktyvus enoliato jonas (konjuguota bazė, turinti neigiamai įkrautą deguonies atomą su šalia esančiu C-C dvigubuoju ryšiu) [9, 10, 23]. Žemesniame pH (pH 4,5) MDA egzistuoja β – hidroksiakroleino formoje pusiausvyroje kartu su rūgštine dikarboniline forma. Dėl rūgštiniame pH įgaunamų karbonilinių savybių, malondialdehidai tampa chemiškai reaktyvus. Jis lengvai polimerizuojasi, pasižymi elektrofilinėmis savybėmis, todėl jis stipriai atakuoja įvairių biologinių molekulių (aminorūgščių, baltymų, DNR) nukleofilinius centrus. Reakcijų tarp MDA ir laisvų amino rūgščių metu susidaro Šifo bazės molekuliniai junginiai. Oksidacinio streso metu MDA metabolizmo produktas acetaldehidai yra verčiamas malondialdehido ir acetaldehido aduktais. MDA aduktai yra biologiškai svarbūs, dėl to, kad jie gali dalyvauti organizmui žalingose reakcijose, skatindami intramolekulines arba tarpmolekulines skersines baltymų/DNR sąsijas. Jos gali pakeisti biomolekulių biochemines savybes ir kauptis senstant ir sergant lėtinėmis ligomis [9, 23, 25].

1.8. Malondialdehido nustatymas biologiniuose mėginiuose

Malondialdehido ir tiobarbitūrinės rūgšties derivatizacija, susidarant tiobarbitūrinės rūgšties (TBA) reaktyviesiems junginiams (TBARS) yra paprasčiausias ir lengviausias indikatorinis metodas, skirtas lipidų peroksidacijos ir laisvųjų radikalų nustatymui ir įvertinimui biologiniuose mėginiuose [10, 19, 25 – 28]. TBA reaguoja ne tik su MDA, bet ir su kitais aldehidais, tačiau kaitinant mėginį padidėja TBA atrankumas MDA. Reakcijos principas: rūgščioje terpėje, esant aukštai temperatūrai (100°C), viena molekulė MDA reaguoja su dviem molekulėmis TBA. Šių dviejų molekulių kondensacijos metu susidaro raudonos spalvos fluorescuojantis junginys, kurį sužadinus prie 515 nm, fluorescencijos maksimumas matuojamas prie 532 nm [10, 25 - 27]. Reakcijos junginiai gali būti išmatuojami spektrofotometriškai arba fluorimetriškai [10, 21, 28]. MDA gali būti nustatomas žmogaus kraujo plazmoje, šlapime, serume, žaizdų sekretuose, amniono skystyje, seilėse, audiniuose bei ląstelėse [10, 19, 21, 26, 28]. Biologiniuose žmogaus skysčiuose MDA gali būti laisvas arba nekovalentiškai prisijungęs prie plazmos baltymų. Todėl galimi įvairūs MDA nustatymo metodai, kurie priklauso nuo to, ar siekiama nustatyti laisvo ar prisijungusio prie baltymų malondialdehido koncentraciją [10]. MDA gali būti nustatomas efektyviosios skysčių chromatografijos, kapiliarinės elektroforezės dujų chromatografijos, dujų chromatografijos - masių spektrometrijos metodais. HPLC metodu nustatytas MDA gali būti detekuojamas UV, UV-Vis, fluorescenciniu, masių spektrofotometriniu detektoriumi [10, 25, 26, 28].



2 pav. MDA reakcija su 2 TBA molekulėmis susidarant MDA – TBA₂ kompleksui [29].

1.9. MDA tyrimai Lietuvoje ir pasaulyje

MDA, rūkymas ir vitaminas E. Rūkymas yra vienas iš pagrindinių širdies ir kraujagyslių rizikos veiksnių. Neigiama rūkymo įtaka ypatingai pastebima vyrų tarpe, nes jie rūko daugiau negu moterys [30]. *L. R. Černiauskienė* su kolegomis tyrė rūkymo įtaką vidutinio amžiaus vyrų lipidų peroksidacijos žymens malondialdehido koncentracijai kraujo serume ir jos

padidėjimui, atsižvelgdami į antioksidantiniu poveikiu pasižyminčio vitamino E koncentraciją kraujo serume. Tyrime dalyvavo 187 (45 – 64) metų amžiaus vyrai, iš kurių 99 yra reguliariai rūkantieji, o 88 niekada nerūkiosieji. Tyrimai parodė, kad reguliariai rūkančių vyrų MDA koncentracija buvo reikšmingai ($p < 0,001$) didesnė – $363,18 \pm 56,92 \mu\text{g/l}$, palyginti su niekada nerūkiosių vyrų – $341,56 \pm 47,56 \mu\text{g/l}$. Pogrupyje vyrų, kuriems nustatytas subkliniškas vitamino E nepakankamumas ($< 20 \mu\text{mol/l}$), tarp reguliariai rūkančiųjų padidėjusios MDA koncentracijos dažnis buvo reikšmingai ($p = 0,002$) didesnis negu tarp niekada nerūkiosiųjų: 76,9% palyginti su 35,5%. Rūkantys žmonės mažiau vartoja daržovių ir vaisių, kurie yra natūralūs antioksidantų šaltiniai, tai gali būti reikšmingai susiję su MDA ir kitų oksidacinio streso žymenų padidėjimu tarp rūkančių žmonių.

MDA, rūkymas ir metabolinis sindromas. Metabolinis sindromas yra reikšmingai susijęs su fiziologiniais ir antropometriniais sutrikimais, didina riziką susirgti cukriniu diabetu bei širdies ir kraujagyslių ligomis. Pastaruoju metu MS yra vertinamas kaip kompleksas kelių ar daugiau savarankiškų koronarinės širdies ligos rizikos veiksnių – padidėjusios juosmens apimties, kuri yra tiesiogiai susijusi su antsvoriu, padidėjusio arterinio kraujospūdžio, padidėjusios trigliceridų koncentracijos ir mažos DTL koncentracijos. Naujausi duomenys rodo, kad MS yra susijęs ir su oksidaciniu stresu [31]. *L. R. Černiauskienė* kartu su kolegomis tyrė rūkymo ir metabolinio sindromo įtaką vidutinio amžiaus vyrų ir moterų oksidacinio streso žymens MDA koncentracijai. Tiriamųjų imtį sudarė 35 – 64 metų amžiaus 359 vyrų ir 411 moterų. Atlikus tyrimus buvo nustatyta, kad tarp reguliariai rūkančių ir tarp metusių rūkyti vyrų padidėjusios MDA koncentracijos kraujo serume ($\geq 360,3 \mu\text{mol/l}$) dažniai buvo reikšmingai didesni ($p < 0,001$) negu tarp niekada nerūkiosių vyrų (50,3% ir 60,0% palyginti su 29,1%). Vidutinė MDA koncentracija vyrų tarpe buvo nustatyta $353,09 \pm 54,77 \mu\text{g/l}$. Moterų tarpe reikšmingo skirtumo nebuvo pastebėta. Vyrų ir moterų su MS ir padidėjusia MDA koncentracija dažniai buvo reikšmingai didesni negu tarp asmenų be MS: tarp vyrų – 56,4% palyginti su 42,0% ($p < 0,05$), tarp moterų – 60%, palyginti su 37,5% ($p < 0,001$). Didžiausi padidėjusios MDA koncentracijos dažniai buvo grupėse rūkančių (reguliariai rūkančių arba metusių rūkyti) asmenų, kurie turėjo MS, o mažiausi dažniai buvo grupėse niekada nerūkiosių asmenų be MS: tarp vyrų – 64,8% palyginti su 26,9% ($p < 0,001$); tarp moterų – 68,8 palyginti su 37,1% ($p < 0,01$). Gautieji tyrimo rezultatai leidžia daryti išvadą, kad rūkantiems ir dar su nustatytu MS asmenims būtina sveikiau maitintis, vartoti daugiau antioksidantų.

MDA ir koronarinė širdies liga. Žinoma, kad oksidacinis stresas ir laisvieji deguonies radikalai turi įtakos aterosklerozės vystymuisi. Laisvųjų deguonies radikalų oksiduoti MTL neigiamai veikia kraujagyslių funkcijas, pavyzdžiui, sumažina kraujagysles plečiančio azoto oksido NO kiekį. NO oksidas organizme atlieka daug svarbių funkcijų - per vazodilatacinį

poveikį reguliuoja kraujo spaudimą, slopina trombocitų agregaciją, leukocitų adheziją, lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją ir MTL oksidaciją. Sumažėjęs NO kiekis ir biologinis aktyvumas yra svarbus ateroskleroziniame procese [32]. *S. Soydisc* kartu su kolegomis ieškojo ryšio tarp koronarinės širdies ligos, NO ir oksidacinio streso. Tyrime dalyvavo 45 pacientai, kuriems buvo nustatyta 50% ar didesnė vainikinių arterijų stenozė (spindžio susiaurėjimas). Pacientai buvo išskirstyti į tris grupes, pagal tai, kiek kraujagyslių buvo paveikta. Kontrolinę grupę sudarė 45 sveiki individai, kuriems per pastaruosius metus buvo atlikti kardiologiniai matavimai. Atlikti tyrimai parodė, kad serumo MDA koncentracija buvo statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$) didesnė pacientų, sergančių koronarine širdies liga ($286,08 \pm 87,19 \mu\text{g/l}$) tarpe, lyginant su sveikais pacientais ($209,69 \pm 60,53 \mu\text{g/l}$). Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp vainikinių arterijų ligos paplitimo ir MDA kiekio nebuvo pastebėta. Taip pat nebuvo statistiškai reikšmingo ryšio tarp MDA ir NO kiekių. Padidėjęs NO kiekis ($p > 0,05$) buvo nustatytas pacientų grupėje ($38,43 \pm 19,74 \mu\text{M}$), kontrolinėje grupėje NO kiekis buvo mažesnis ($35,19 \pm 29,35 \mu\text{M}$). Autoriai, atlikę tyrimus, nustatė, kad MDA, kaip oksidacinio streso žymens, koncentracija koreliuoja su vainikine arterijų liga, taip parodant, kad tarp oksidacinio streso ir aterosklerozės yra ryšys. Autoriai nustatė, kad šis ryšys nepriklauso nuo NO kiekio, kuris buvo šiek padidėjęs pacientų grupėje.

MDA ir hipertenzija. Arterinė hipertenzija yra itin dažna liga visame pasaulyje. Ji yra vienas iš pagrindinių širdies ir kraujagyslių rizikos veiksnių, dažnai tampanti priežastimi tokių ligų kaip koronarinė širdies liga, periferinių arterijų liga, širdies nepakankamumas. Manoma, kad hipertenzija ir oksidacinis stresas yra glaudžiai susiję. Oksidacinis stresas skatina kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją ir hipertrofiją bei kolageno kaupimąsi. To pasekoje vidurinis kraujagyslių sluoksnis storėja, o vidinis – siaurėja. Taip pat padidėjęs oksidacinis stresas gali pažeisti endotelį bei nuo jo priklausomą vazodilataciją [33]. *D. V. Bhale* kartu su kolegomis savo darbe siekė nustatyti hipertenzija sergančių pacientų MDA, kaip oksidacinio streso žymens, koncentraciją. Tyrime dalyvavo 30 pacientų (20 – 60 metų), sergančių hipertenzija. Kontrolinę grupę sudarė tos pačios amžiaus grupės 30 sveikų asmenų. Atlikti tyrimai parodė, kad hipertenzija sergančių pacientų serumo MDA koncentracija ($98,00 \pm 6,49 \mu\text{g/l}$) buvo statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$) didesnė, lyginant su kontrolinės grupės, sveikų asmenų MDA koncentracija ($87,91 \pm 1,44 \mu\text{g/l}$). Taigi, autoriai daro išvadą, kad oksidacinis stresas ir MDA yra susiję, tačiau iki galo nėra aišku, ar reaktyviosios deguonies formos skatina hipertenzijos vystymąsi, ar jos yra kraujagyslių pažeidimo padarinys sergant hipertenzija. Todėl šia tematika reikalinga atlikti daugiau tyrimų.

1.10. Aterosklerozė. Rizikos veiksniai ir patogenezė

Širdies ir kraujagyslių ligos yra pagrindinė mirtingumo ir sergamumo priežastis Lietuvoje ir kitose išsivysčiusiose šalyse. Aterosklerozė yra lėtinė, stambių ir vidutinio dydžio arterijų liga, kuriai yra būdinga vidinio arterijų sluoksnių sustorėjimai - aterosklerozinės plokštelės. Aterosklerozė – ilgas ir daugiaveiksmis procesas, kuris prasideda dar ankstyvame amžiuje ir vėliau dešimtmečius tyliai progresuoja, nesukeldamas jokių klinikinių simptomų. Anksčiausiai yra pažeidžiama aorta (dar kūdikystėje), kiek vėliau – vainikinės, smegenų arterijos. Aterosklerozės klinikinės išraiškos yra koronarinė širdies liga, insultas, periferinių kraujagyslių liga. Pagrindinis aterosklerozinio proceso taikynys yra endotelis, kurio ląstelių pažeidimas siejamas su aterosklerozės rizikos veiksniais [2, 34, 35].

Aterosklerozės rizikos veiksniai. Širdies ir kraujagyslių ligoms taip pat ir aterosklerozės atsiradimui ir progresijai didelės įtakos turi rizikos veiksniai. Juos galima išskirti į kintamus, kuriuos galima kontroliuoti ir nekintamus, kurių pakeisti negalima. Pagrindiniai modifikuojami rizikos veiksniai yra fizinio aktyvumo stoka, nutukimas, bloga mityba (gausus cukraus ir riebaus maisto vartojimas), rūkymas, cukrinis diabetas, arterinė hipertenzija, MTL cholesterolio padidėjimas, DTL cholesterolio sumažėjimas, padidėjusi uždegiminių žymenų koncentracija. Dabartiniai gydymo metodai remiasi šių rizikos veiksnių valdymu, gyvenimo būdo pakeitimu, su ateroskleroze susijusių ligų (diabeto, hipertenzijos) kontrole bei lipidų koncentracijos kraujo serume mažinimu. Prie nemonifikuojamų rizikos veiksnių yra priskiriama vyresnis amžius, vyriška lytis, genetiniai veiksniai, paveldimumas. Vyresniame amžiuje pastebima daugiau pokyčių širdies ir kraujagyslių sistemoje, dažnesnis padidėjęs kraujospūdis. Vyrams susirgti ateroskleroze rizika yra didesnė negu moterims iki menopauzės dėl apsauginio estrogeno poveikio širdies ir kraujagyslių sistemai, taip pat moterų kraujospūdis yra mažesnis negu atitinkamai to paties amžiaus vyrų [2, 3, 35]. Aterosklerozės patogenezei svarbūs ir genetiniai pokyčiai. Žinoma, kad šeiminiškas polinkis sirgti ateroskleroze ir širdies kraujagyslių ligomis yra poligeninis. Šeimose gali būti aptinkami įvairūs lipidų ir lipoproteinų genų metabolizmo pokyčiai (pavyzdžiui, ApoB, ApoE, MTL receptoriaus, lipoproteino(a)), dėl kurių kraujyje gali atsirasti hiperlipidemijos (pavyzdžiui, hipercholesterolemija), kurios padidina aterosklerozės riziką [36].

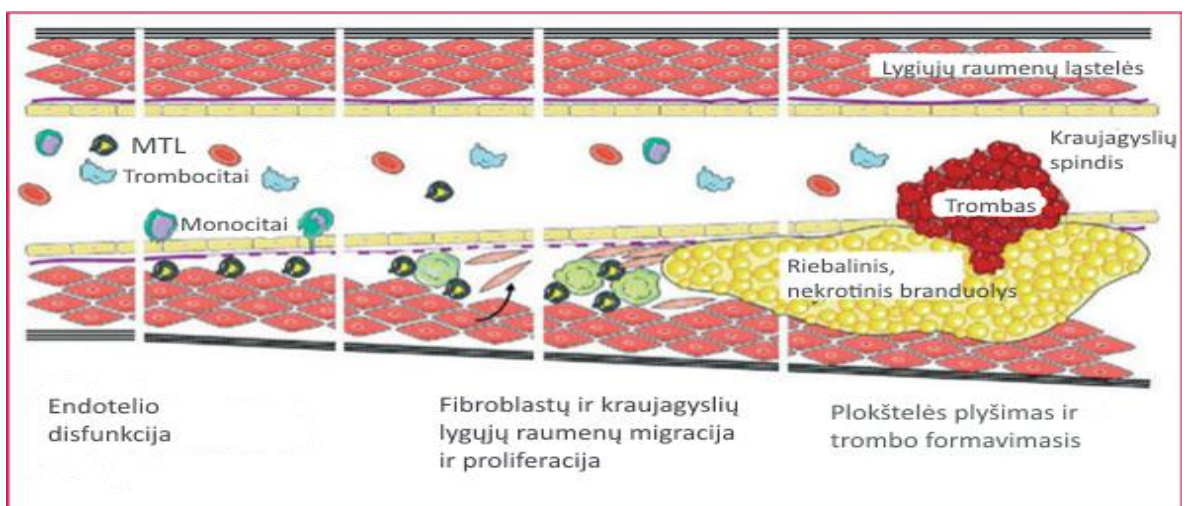
Aterosklerozės komponentai. Aterosklerozės proceso metu vyksta daug įvairių patologinių reiškinių kraujagyslės sienelėje. Šiai ligai yra būdinga endotelio ląstelių pažeidimas, leukocitų bei trombocitų prikibimas prie arterijos sienos, makrofagų infiltracija, lygiųjų raumenų ląstelių proliferacija, lipidų bei jungiamojo audinio kaupimasis bei trombozų formavimasis. Svarbiausi aterosklerozinio proceso komponentai yra lipidai, jungiamasis audinys bei ląstelės. [2, 34].

Norint geriau suprasti aterosklerozės proceso raidą reikia įsigilinti į arterijos sienelės struktūrą ir funkcijas. Sveikos arterijos sienelę sudaro trys sluoksniai: vidinis (*intima*), vidurinis (*media*) ir išorinis (*adventicia*). Vidinis sluoksnis yra endotelio ląstelių sluoksnis, išsidėstęs ant bazinės membranos. Normalus sveikas endotelis reguliuoja kraujagyslių tonusą ir sienelės struktūrą, atlieka antikoaguliacinę, antitrombozinę ir fibrinolizinę funkcijas. Endotelis palaiko pusiausvyrą tarp vazodilatacijos ir vazokonstrikcijos, slopina ir skatina lygiųjų raumenų ląstelių augimą ir migraciją, veikia trombogenezę ir fibrinolizę ir taip užtikrina kraujagyslių homeostazę. Vidurinį sluoksnį sudaro lygiųjų raumenų ląstelių sluoksnis ir jungiamojo audinio komponentai – elastinas, kolagenas ir proteoglikanas. Dėl jų įtakos arterijų sienelė išlaiko elastingumą ir vazomotorinę funkciją. Išorinį sluoksnį sudaro jungiamasis ir riebalinis audiniai. Taip pat jame yra kraujagyslės sienelę maitinančių kapiliarų bei jų inervuojančių vegetacinių nervų galūnelių. Jie lemia glaudų ryšį tarp išorinio kraujagyslių sluoksnio audinių, nervų galūnelių ir vidurinio sluoksnio [2, 3, 37].

Kalbant apie aterosklerozės procesą svarbu suvokti lipidų ir lipoproteinų funkcijas ir svarbą žmogaus organizmui. Aterosklerozės procesui svarbiausi lipidai yra trigliceridai, cholesterolis ir mažo bei didelio tankio lipoproteinai. Trigliceridai yra pagrindinis riebalų rūgščių šaltinis žmogaus organizme, iš jų susidaro daug energijos, reikalingos raumeniniams audiniams (ypatingai širdžiai). Trigliceridų koncentracijos padidėjimas stebimas ir sergant cukriniu diabetu. Cholesterolio yra membranų sudėtyje, jis yra svarbus steroidinių hormonų (lytinių, antinksčių), tulžies rūgščių sintezei. Lipoproteinų dalelės yra sudarytos iš baltymų, fosfolipidų ir lipidų (cholesterolio ir trigliceridų). Daug cholesterolio turintys mažo tankio lipoproteinai yra vadinami aterogeniniais, nes jų pagrindinė funkcija žmogaus organizme yra pernešti cholesterolį iš jo sintezės vietų kepenyse ir žarnų gleivinėje į periferinius audinius. Įvairūs epidemiologiniai tyrimai rodo, kad padidėjusi MTL bei cholesterolio ir trigliceridų koncentracija kraujyje didina riziką sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis (pavyzdžiui, koronarine širdies liga). Taip pat nustatyta, kad padidėjusi aterosklerozės rizika yra susijusi su DTL trūkumu. Didelio tankio lipoproteinų svarbiausia funkcija yra atvirkštinis cholesterolio transportas iš periferinių audinių į kepenis, kur didžioji jo dalis panaudojama tulžies rūgščių sintezei ar jis šalinamas su tulžimi, todėl jie dar vadinami antiaterogeniniais. Taip pat DTL atlieka dar keletą labai svarbių, su lipidais nesusijusių funkcijų - inhibuoja monocitų adheziją ir migraciją į arterijos intimą, skatina ląstelių atsinaujinimą ir proliferaciją, apsaugo nuo endotelio priklausomą kraujagyslių veiklą, mažina trombozės riziką [2, 34, 37].

Aterosklerozės patogenezė. Normaliomis sąlygomis arterijos endotelio sienelėje yra nusistovėjusi pusiausvyrą tarp plazmos MTL ir viduląstelinės MTL koncentracijos. Kai šių lipoproteinų kiekis neviršija rekomenduotinių normos ribų, juos patekusius į subendotelinį tarpą

katabolizuoja lygiųjų raumenų ląstelės bei makrofagai. Įvykus endotelio pažeidimui, kurį sukelia įvairūs rizikos veiksniai (stresas, hipoksija, susidariusi dėl rūkymo, hipertenzija ir kt.), ląstelių pralaidumas padidėja ir į jį gali patekti aterogeninės medžiagos (MTL). Ilgiau kraujo tėkmėje cirkuliuojantys MTL yra modifikuojami – dėl laisvųjų deguonies radikalų poveikio įvyksta jų oksidacija [2, 37, 38]. Tuomet šie lipoproteinai tampa stipriais chemotaksiniais agentais cirkuliuojantiems monocitams. Endotelio ląstelių paviršiuje daugėja leukocitų adhezijos molekulių, kurios pritraukia monocitus ir T limfocitus, šie jungiasi prie endotelio ląstelių ir migruoja į intimą. Monocitai, patekę į poendotelinį sluoksnį, virsta makrofagais, kurie „prarija“ oksiduotus MTL ir virsta putotomis ląstelėmis, kurių telkiniai intimoje sudaro lipidines (riebalines) dėmes. Makrofagų išskiriami augimo faktoriai ir citokinai skatina lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją į intimą bei ekstraląstelinio matrikso baltymų sintezę. Susidaro fibrozinė kepurėlė, kurios sudedamosios dalys yra makrofagai, T limfocitai, aktyvuotos lygiųjų raumenų ląstelės bei daug kolageno turintys pluoštinės audiniai [34, 38]. Taip susidaro aterosklerozinė plokštelė, kurią sudaro riebalinė šerdis ir fibrozinis dangalas, skiriantis plokštelę nuo pratekančio kraujo. Jai didėjant, siaurėja kraujagyslių spindis. Didėjant ateroskleroziniams pažeidimams, aterosklerozinė plokštelė gali būti pažeista. Aktyvuoti makrofagai sekretuoja matrikso metalo proteinazę, kuri skatina ekstraląstelinio matrikso lizę, o aktyvuoti T limfocitai produkuoja naviko nekrozės faktorių α (TNF – α), kuris slopina kolageno sintezę lygiųjų raumenų ląstelėse. Dėl šių procesų fibrozinė kepurėlė išplonėja ir gali plyšti. Tuomet per plyšį į kraujagyslės spindį pasipila lipidai ir ties įtrūkimu ima lipti krešėjimo ląstelės trombocitai – susidaro trombas, kuris gali blokuoti kraujo tėkmę ir gali sukelti išemiją [36].



3 pav. Aterosklerozės patogenezė [39].

1.11. Psichosocialinio streso – aterosklerozės - oksidacinio streso ryšys

Jau seniai žinoma, kad širdies ir kraujagyslių ligų atsiradimui, pavyzdžiui, aterosklerozei, daug įtakos turi rizikos veiksniai. Tačiau manoma, kad šių ligų patogenezėi ne ką mažiau svarbios yra ir tam tikros streso rūšys - oksidacinis stresas, socialinis stresas ir psichologinis stresas. Žinoma, kad socialinio streso veiksniai, pavyzdžiui, socialinės paramos trūkumas, skurdas, vienatvė, depresija, socialinė izoliacija, turi neigiamą poveikį širdies ir kraujagyslių ligoms. Stiprus psichologinis stresas kartu su tradiciniais aterosklerozės rizikos veiksniais – rūkymu, hiperlipidemija, hipertenzija, – skatina laisvųjų deguonies radikalų gamybą ir oksidacinį stresą kraujagyslėse. Oksidacinis stresas yra susijęs su endotelio disfunkcija, aterogeneze, hipertenzija ir kraujagyslių remodeliavimu. Todėl kartu šių streso rūšių sąveika yra labai svarbi širdies ir kraujagyslių ligų, tame tarpe ir aterosklerozės patogenezėje [34, 40, 40].

Žinoma, kad ilgą laiką besitęsiantis emocinis ar psichologinis stresas gali sukelti depresiją, lėtinį nerimą, potrauminį streso sindromą ir/ar lėtinį panikos sutrikimą. Streso teorijos kūrėjas H. Selje teigė, kad per didelis psichologinis stresas sukelia sisteminių stresą, simptomus, kurie pasireiškia periferiniuose audiniuose. Mechanizmai, kuriais psichologinis stresas ir/ar depresija prisideda prie širdies ir kraujagyslių ligų patogenezės šiandien dar nėra visiškai aiškūs [40].

Žinoma, kad psichologinis stresas organizme sukelia tam tikrą fiziologinį atsaką. Tam organizme yra aktyvuojamos dvi sistemos – PHA ašis ir simpatinė nervų sistema. Dėl padidėjusio PHA ašies aktyvinimo daugiau pasigamina antinksčių žievės hormonų. Padidėjęs gliukokortikoidų kiekis organizme gali sutrikdyti lipidų ir ar/gliukozės metabolizmo procesus, sukelti tam tikras sistemines ir uždegimines ligas. Padidėjęs simpatinės nervų sistemos aktyvumas aktyvina renino – angiotenzino - aldosterono sistemą (RAAS), o ši padidina kraujagyslių tonusą, miokardo deguonies suvartojimą ir aktyvina trombocitus. Angiotenzinas II stimuliuoja NADH/NADPH oksidazės fermentinę sistemą, kuri skatina reaktyviųjų deguonies formų susidarymą. Šios susidariusios formos sukelia endotelio disfunkciją, o tai skatina aterosklerozės vystymąsi ir progresavimą [34, 41].

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

2.1. Tiriamoji medžiaga

2.1.1. Tiriamoji grupė

Tiriamieji buvo atrinkti pagal Lietuvos mokslo tarybos finansuojamo projekto „Lėtinio streso nulemti aterosklerozės proceso ypatumai: naujų biožymenų paieška ir tyrimas“ kriterijus. Tiriamųjų imtį sudarė vyrai, suskirstyti pagal amžių į dvi grupes – jauni (25 - 40 metų) ir vidutinio amžiaus (41 – 55 metų). Tai atsitiktine tvarka iš Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Šeimos centro duomenų bazės atrinkti sveiki vyrai, nesergantys ūminėmis ir lėtinėmis ligomis. Tiriamiesiems buvo pristatytas vykdomas tyrimas. Jiems išmatuotas svoris, ūgis, liemens apimtis, arterinis kraujo spaudimas (AKS) bei širdies susitraukimų dažnis (ŠSD), apskaičiuotas kūno masės indeksas (KMI). Pacientams pildymui namuose duota psichosocialinio streso vertinimo anketa su instrukcija streso lygio įvertinimui. Dalyviams laboratoriniai tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centre. Jiems buvo nustatyta lipidų apykaitos žymenų (bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių (TAG), MTL cholesterolio (MTL-Ch), DTL cholesterolio (DTL-Ch)), uždegimo žymens – didelio jautrumo C reaktyvaus baltymo (CRB) koncentracijos kraujo serume.

2.1.2. Kraujo paėmimas, mėginio paruošimas ir laikymas

Tiriamieji asmenys į Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centrą atvyko tarp 7:30 ir 10 valandos ryto. Prieš kraujo paėmimą, jie turėjo būti 8 - 12 valandų nevalgę, nerūkę, nevartoję alkoholio, medikamentų. Tiriamiesiems paimtas veninis kraujas į mėgintuvėlį be priedų. Kraujas po krešulio susiformavimo buvo 10 minučių centrifuguojamas 3000 aps./min greičiu. Gauti serumai iki tyrimo buvo užšaldyti ir laikomi - 80°C temperatūroje.

2.2. Tyrimo metodai

2.2.1. Lipidų apykaitos rodiklių nustatymas

B-Ch, DTL-Ch, MTL-Ch, TAG koncentracijos pacientų kraujo serumuose buvo nustatomos naudojant Architect ci8200 analizatorių (Abbott, JAV). Šių rodiklių nustatymui buvo naudojami reagentų rinkiniai (Abbott Laboratories, Vokietija) ir vidaus kokybės kontroliniai serumai.

Bendrojo cholesterolio koncentracija kraujo serume nustatyta fermentiniu (cholesterolesteazės/ cholesteroloksidazės) metodu. Metodo principas: fermentas

cholesterolesterazė hidrolizuoja cholesterolio esterius, susidaro laisvas cholesterolis ir riebalų rūgštys. Serumo laisvasis cholesterolis ir susidaręs cholesterolis (atlaisvintas iš cholesterolio esterių), fermento cholesteroloksidazės yra oksiduojami iki cholestenono, išsiskiriant vandenilio peroksidui (H_2O_2). Reakcijos metu susidaręs vandenilio peroksidas reaguoja su hidroksibenzoine rūgštimi ir 4-aminoantipirinu. Susidaręs galutinis spalvotas reakcijos produktas (chinonas), absorbuoja šviesą ties 500 nm. Šviesos sugerties pokyčiai yra tiesiogiai proporcingi cholesterolio koncentracijai kraujo serume. Rekomenduojama bendrojo cholesterolio reikšmė kraujo serume yra $<5,2$ mmol/l.

Triacilglicerolių (TAG) koncentracija kraujo serume nustatyta fermentiniu (glicerolfosfatoksidazės) metodu. Metodo principas: kraujo serume esantys triacilgliceroliai, veikiami fermento lipazės, yra hidrolizuojami iki glicerolio ir laisvų riebalų rūgščių. Susidaręs glicerolis ir esant adenzintrifosfatu (ATP), veikiant fermentui glicerolkinazei yra fosforilinamas iki glicerolio-3-fosfato ir adenzindifosfato (ADP). Toliau glicerolio-3-fosfatas fermento glicerolfosfatoksidazės yra oksiduojamas iki dihidroksiacetono fosfato (DHAP) ir vandenilio peroksido (H_2O_2). Susidaręs vandenilio peroksidas reaguoja su peroksidaze, 4-aminoantipirinu ir 4-chlorfenoliu ir sudaro spalvotą junginį, kuris absorbuoja šviesą ties 500 nm. Šviesos sugerties pokytis yra tiesiogiai proporcingas triacilglicerolių koncentracijai kraujo serume. Rekomenduojama triacilglicerolių koncentracija kraujo serume yra $<1,7$ mmol/l.

DTL cholesterolio koncentracija kraujo serume nustatyta fermentiniu (cholesterolesterazės/ cholesteroloksidazės) metodu. DTL cholesterolio nustatymas susideda iš dviejų etapų, kurių kiekviename yra naudojami skirtingi reagentai. Pirmojo etapo metu yra blokuojamas ne DTL cholesterolis, esantis MTL, LMTL ir chilomikronuose, veikiant cholesterolesterazei. Pasigaminęs vandenilio peroksidas (H_2O_2), veikiamas peroksidazės ir DSBmT reagento (N, N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidino-dinatrio) sudaro nespaltotą junginį, kuris yra galutinis reakcijos produktas. Antrojo etapo metu, naudojant specialų detergentą, yra ištirpinamas DTL cholesterolis ir išlaisvinami jame esantys cholesterolio esteriai. Juos paveikus cholesterolesteraze ir oksidaze, susidaro cholestenonas ir vandenilio peroksidas (H_2O_2). Vandenilio peroksidas, reaguodamas su 4-aminoantipirinu ir DSBmT reagentu sudaro spalvotą junginį, kuris absorbuoja šviesą 500 nm bangos ilgyje. Pagal šviesos absorbcijos pokytį yra nustatoma DTL cholesterolio koncentracija kraujo serume. Rekomenduojama DTL-Ch koncentracijos reikšmė kraujo serume yra $>0,91$ mmol/l (vyrams) ir $>1,21$ mmol/l (moterims);

MTL cholesterolio koncentracija tiriamųjų pacientų kraujo serume buvo nustatoma dviem būdais: apskaičiuojant pagal Friedvaldo formulę, o jei $TG > 4,5$ mmol/l, tiesioginiu (automatizuotu) dviejų pakopų fermentiniu (cholesterolesterazės/ cholesteroloksidazės) metodu.

Friedvaldo formulė, kuria apskaičiuojama MTL cholesterolio koncentracija tiriamajame mėginyje:

MTL cholesterolis (mmol/l) = bendrasis cholesterolis – (DTL cholesterolis + TG/2,22);
čia TG/2,2 atspindi LMTL cholesterolio kiekį mmol/l.

Tiesioginis MTL cholesterolio nustatymo metodas panašus į DTL cholesterolio metodą. Pirmiausia, naudojant reagentą nr. 1, yra ištirpinamas ne MTL cholesterolis (esantis DTL, LMTL ir chilomikronuose), kuris vėliau veikiant cholesterolio esterazei, oksidazei ir peroksidazei sudaro nespalvotą junginį (galutinis reakcijos produktas). Antrasis MTL cholesterolio išskyrimo etapas susideda iš viena po kitos sekančių reakcijų, kurių metu naudojant specialų detergentą yra ištirpinamami MTL ir išlaisvinami jose esantys cholesterolio esteriai. Juos paveikus cholesterolio esteraze ir oksidaze, susidaro cholestenonas ir vandenilio peroksidas (H₂O₂). Vandenilio peroksidas reaguodamas su 4-aminoantipirinu ir DSBmT reagentu sudaro spalvotą junginį, kuris absorbuoja šviesą 500 nm bangos ilgyje. Pagal šviesos absorbcijos pokytį yra nustatoma MTL cholesterolio koncentracija kraujo serume. Rekomenduojama MTL-Ch koncentracija kraujo serume yra <3,4 mmol/l.

2.2.2. C- reaktyvaus baltymo (CRB) koncentracijos nustatymas

Didelio jautrumo C - reaktyvaus baltymo (CRB) koncentracija buvo nustatyta imunoturbidimetriniu metodu. Tyrimui naudojamos latekso dalelės, padengtos triušio polikloniniais CRB antikūnais, kurie agliutinoja tiriamajame serume esantį CRB. Susidarius antikūno – antigeno kompleksui, įvyksta agliutinacijos reakcija. Agliutinacija aptinkama vertinant absorbcijos pokyčius 572 nm bangos ilgyje. Absorbcijos padidėjimas yra tiesiogiai proporcingas CRB koncentracijai kraujo serume.

Rekomenduojamos CRB reikšmės

- iki 1 mg/l – nedidelė širdies ir kraujagyslių ligų rizika;
- 1-3 mg/l – vidutinė širdies ir kraujagyslių ligų rizika;
- 3-10 mg/l – didelė širdies ir kraujagyslių ligų rizika.

2.2.3. Malondialdehido koncentracijos nustatymas kraujo serume

Malondialdehido (MDA) koncentracijos nustatymas tiriamųjų pacientų kraujo serume buvo atliekamas pagal 2000 metais publikuotą *G. A. Khoshsorur* su bendraautorais straipsnį [28]. MDA ir tiobarbitūrinės rūgšties junginio atskyrimui pritaikytas efektyviosios skysčių chromatografijos (ESCh) metodas su fluorescenciniu detektoriumi.

2.2.3.1. Aparatūra

ESCh tyrimai buvo atliekami su Shimadzu Nexera X2 (Shimadzu, Japonija) chromatografu, sukomplektuotu iš aukšto slėgio dviejų kanalų gradientinio siurblio, sudaryto iš dviejų izokratinių siurblių su tirpiklių pasirinkimo galimybe ir maišymo kamera, automatinės mėginio įvedimo sistemos, kolonėlių termostato ir fluorescencinio detektoriaus. Įvedamas mėginio tūris – 20 µl. Analitės atskyrimui naudota Agilent Poroshell 120 EC–C18 (3×100 mm, 2,7 µm) kolonėlė (Agilent, JAV). Chromatografinė kolonėlė termostatuojama 30 °C temperatūroje. Judrios fazės srauto greitis – 0,4 ml/min. Judri fazė formuojama iš dviejų eliuentų: metanolio ir 50mM fosfatinio buferinio tirpalo (pH 6,8), santykiu 60:40, v/v. Analizės trukmė – 5 min. Fluorescencinio detektoriaus sužadavimo bangos ilgis – 527 nm, detekcijos – 551 nm. MDA-TBA₂ junginio sulaikymo trukmė 1,63 min. Duomenys buvo apdorojami *LabSolutions* programine įranga.

Buferinių tirpalų pH matavimai buvo atliekami pH-metru pH320 (WTW, Vokietija).

Dejonizuotas vanduo paruoštas vandens gryninimo įranga PURELAB[®] Flex-3, (Elga[®], JK).

Realių mėginių paruošimas buvo atliekamas naudojant:

- Analizines svarstyklės SBC 31 („Scaltec“, JAV);
- Purtyklę (*Vortex* tipo) („Liap“, Latvija);
- Centrifugą („Dynamica Scientific“, JK);
- Mėginių termostatą BioSan TS-100 (BioSan, Latvija).

2.2.3.2. Reagentai

- Tiobarbitūrinė rūgštis (TBA), ≥ 93% grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Natrio hidroksidas (NaOH), ≥ 90% grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Kalio hidroksidas (KOH), 90% grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Fosforo rūgštis (H₃PO₄) > 85-90%, (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Metanolis (MeOH), gradientinės ESCh grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Dviejų lygių vidinės kontrolės „RECIPE ClinRep“ (Recipe, Vokietija);
- Liofilizuotas kalibracijos serumas „RECIPE ClinRep“ (Recipe, Vokietija).

2.2.3.3. Darbinių tirpalų gamyba

1) 1M NaOH tirpalo paruošimas: 4g NaOH miltelių ištirpinama 100 ml dejonizuoto vandens.

2) Pašarminto metanolio tirpalo paruošimas: į 100 ml MeOH pridedama 9 ml 1M NaOH.

3) 42mM tiobarbitūrinės rūgšties tirpalo paruošimas: 0,61g TBA miltelių ištirpinama 100 ml dejonizuoto vandens.

4) Fosforo rūgšties (H_3PO_4) tirpalo (0,44M) paruošimas: 2,98 ml fosforo rūgšties sumaišoma su 97,2 ml dejonizuoto vandens.

5) 50mM fosfatinio buferinio tirpalo paruošimas: 3,2 g KH_2PO_4 ($M=136g/mol$) ištirpinama 500ml dejonizuoto vandens. Į paruoštą tirpalą palaipsniui lašinamas KOH tirpalas, pH-metru pamatuojamas pH. Į tirpalą lašinamas KOH, kol tirpalo pH tampa lygus 6,8.

6) Į dviejų lygių vidinių kontrolių ir liofilizuotų kalibracijos serumo buteliukus įlašinama po 500 μ l distiliuoto vandens. Paliekama stovėti 15 minučių, po to švelniai sumaišoma.

2.2.3.4. Mėginio paruošimas chromatografiniai analizei

Pirmas etapas – DERIVATIZACIJA

Užšaldyti pacientų serumai yra atšildomi kambario temperatūroje ir lėtai sumaišomi. 50 μ l atšildyto serumo yra sumaišoma su 750 μ l 0,44 M fosforo rūgšties tirpalo, 250 μ l vandeninio 42 mM TBA tirpalo ir 450 μ l vandens. Tirpalas 5 sekundes maišomas purtyklėje. Tokiu pačiu principu yra ruošiami ir kiti mėginiai: dviejų lygių vidinės kontrolės, „tuščias“ (angl. term., Blank) ir kalibracijos serumas. Ruošiant tuščią mėginį, vietoje serumo yra įpilama 50 μ l vandens. Paruošti mėginiai inkubuojami termostate, 100 °C temperatūroje 60 minučių.

Antras etapas – NEUTRALIZACIJA/NUSODINIMAS

Po inkubacijos, mėginiai staigiai atvėsunami ledo vonelėje. Sekančiame žingsnyje paaimama 500 μ l mėginio ir į jį įpilama 500 μ l pašarminto metanolio tirpalo, (1:1, v/v). Mėginys sumaišomas purtykle ir centrifuguojamas 3 min 10 000g (RCF 10).

Trečias etapas – CHROMATOGRAFINĖ ANALIZĖ

Po centrifugavimo, 500 µl centrifugato įpilama į chromatografinį buteliuką ir analizuojama.

2.3.3.5. Malondialdehido koncentracijos skaičiavimas

Gauti matavimų duomenys buvo apdorojami *LabSolutions* programine įranga. Programos suintegruoti ir apskaičiuoti smailių plotai naudojami MDA koncentracijai apskaičiuoti, pagal žemiau pateiktą formulę:

$$C_{\text{MDA mėginyje}} = \frac{\text{Mėginio MDA smailės plotas*} \times \text{Kalibranto koncentracija}}{\text{Kalibranto smailės plotas}} \text{ (}\mu\text{g/l)}$$

* - mėginio MDA smailės plotas = MDA smailės plotas – Tuščio mėginio smailės plotas

Pirmiausia įvertinamos dviejų lygių vidinių kontrolių mėginių MDA koncentracijos, kurios lyginamos su gamintojo sertifikate nurodytomis koncentracijomis. Vidinėms kontrolėms atitikus gamintojo nurodytas vertes, toliau galima tęsti mėginių analizę, o gautus duomenis apskaičiuoti pagal tą pačią formulę.

Liofilizuoto kalibracijos serumo gamintojas taip pat pateikia sertifikatą, kuriame nurodoma MDA koncentracija – būtent ją įvedame į skaičiavimo formulę. Mūsų atveju ji buvo lygi 71 µg/l.

Norint apskaičiuoti MDA koncentraciją µg/l, reikia MDA koncentraciją µmol/l padauginti iš MDA molinės masės (72,06 g/mol).

Pagal atliktą metodiką [28] rekomenduojamos MDA reikšmės EDTA kraujo plazmoje yra $0,70 \pm 0,15$ µmol/l arba $50,44 \pm 10,81$ µg/l; kraujo serume rekomenduojamos reikšmės yra 0,53 - 2,10 µmol/l arba 38,19 – 151, 32 µg/l. *F. Nielsen* ir bendraautorių publikacijoje [42] rekomenduojamos reikšmės EDTA kraujo plazmoje yra $0,36 - 1,24$ µmol/l arba $25,94 \pm 89,35$ µg/l, o kraujo serume – $1, 16$ µmol/l arba $83, 59$ µg/l .

2.4. Psichosocialinis testas streso lygiui nustatyti

Naudotas psichosocialinis klausimynas, parengtas ir validuotas LiVicordia projekte [43]. Klausimynas yra sudarytas iš žemiau išvardintų dalių su vertinimo skale.

Darbo aplinka:

- psichologiniai poreikiai (5-20 galimų taškų). Didesnės taškų reikšmės rodo mažesni 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 galimybes. 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 parama 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 stipresnį išsekimą.

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

2.5. Antropometrinių duomenų skaičiavimas

Siekiant apskaičiuoti kūno masės indeksą, tiriamiesiems buvo išmatuota kūno masė ir ūgis. Taip pat jiems buvo išmatuota ir pilvo liemens apimtis. KMI yra kūno masė kilogramais padalinta iš ūgio metrais, pakelto kvadratu [44].

$$\text{KMI} = \text{masė (kg)} / (\text{ūgis (m)})^2$$

KMI reikšmės pagal pasaulio sveikatos organizacijos rekomendacijas suskirstytos į 4 grupes (1 lentelė) [45].

1 lentelė. KMI reikšmės.

KMI reikšmė	KMI (kg/m ²)
<18,5	Per mažas svoris
18,5-24,9	Normalus svoris
25,0-29,9	Antsvoris
>30,0	Nutukimas

2.6. Statistinė duomenų analizė

Statistinė duomenų analizė buvo atlikta naudojant Microsoft Office Excel 2010 ir SPSS 23.0 programas. Siekiant išsiaiškinti, ar duomenys buvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį buvo taikytas Kolmogorovo – Smirnovo testas. Šio testo rezultatai parodė, kad tik labai maža duomenų dalis buvo pasiskirsčiusi pagal normalųjį skirstinį. Todėl tolimesnei statistinei duomenų analizei buvo taikyti neparametriniai metodai. Palyginimui tarp dviejų grupių buvo taikytas Mann-Whitney U testas. Palyginimui tarp 3 ir daugiau grupių buvo taikytas Kruskal-Wallis H testas. Koreliacijos tarp kintamųjų įvertinimui naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas.

Lentelėse ir grafikuose duomenys pateikiami vidurkiu ir standartiniu nuokrypiu (jei duomenys atitinka normalumo sąlygas) arba mediana ir kvartilų skirtumu.

Rezultatai buvo laikomi statistiškai reikšmingais, jei $p < 0,05$

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1. Tiriamieji

Tiriamųjų imtį sudarė 202 sveiki vyrai, nuo 25 iki 55 metų, nesergantys ūminėmis ar lėtinėmis ligomis. 15 tiriamųjų, neatvykę į antrąją vizitą duoti kraujo arba neužpildę psichosocialinio streso vertinimo klausimyno, į imtį nebuvo įtraukti. Tiriamieji (N=202) buvo suskirstyti pagal amžių į dvi grupes: sveikus jaunos (25-39 metų) ir sveikus vidutinio amžiaus (40 – 55 metų) vyrus. Pirmosios amžiaus grupės vyrų buvo daugiau (57,4%, N=126) negu antrosios (42,6%, N=76). Šiems asmenims buvo atliktas klinikinis ištyrimas, apimantis anamnezę, antropometrinius duomenis (ūgis, svoris, liemens apimtis), arterinį kraujo spaudimą, širdies susitraukimų dažnį. Taip pat tiriamiesiems nustatyta lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių, MTL cholesterolio ir DTL cholesterolio), uždegimo žymens C – reaktyvaus baltymo ir MDA koncentracijos kraujo serume. Taip pat pagal psichosocialinio vertinimo klausimyną buvo įvertinta, ar tiriamieji patiria lėtinį stresą. Pacientams, pagal ūgio ir svorio rodiklius, buvo paskaičiuotas kūno masės indeksas (KMI). 2 ir 3 lentelėse pateikiamos tiriamųjų lipidų apykaitos rodiklių, antropometrinių duomenų ir uždegimo žymens charakteristikos.

2 lentelė. Lipidų apykaitos rodikliai ir antropometriniai duomenys.

Rodikliai	Vidurkis ± SD
Bendrasis cholesterolis, mmol/l	5,13 ± 0,99
DKS, mm Hg	82,93 ± 9,36

Pastaba: DKS – diastolinis kraujo spaudimas

3 lentelė. Lipidų apykaitos rodikliai, antropometriniai ir uždegimo žymens duomenys.

Rodikliai	Mediana	Q ₃ – Q ₁	Min	Max
TAG, mmol/l	1,17	1,71 – 0,88	0,41	9,94
DTL, mmol/l	1,22	1,39 – 1,05	0,58	3,08
MTL, mmol/l	3,20	3,71 – 2,62	1,2	5,93
CRB, mg/l	0,64	1,36 – 0,32	0,1	31
Amžius, metais	36	45 – 29	25	54
Ūgis, cm	183	1,87 – 1,79	169	199
Svoris, kg	83,45	92 – 76,15	54,3	123

Liemens apimtis, cm	88	98 - 82	69	123
KMI, kg/m ²	24,93	27,6 – 22,95	16,95	38,15
SKS, mm Hg	132	140 - 124	107	176
ŠSD	68	77 – 61,75	68	108

Pastabos: KMI – kūno masės indeksas, SKS – sistolinis kraujo spaudimas, ŠSD – širdies susitraukimų dažnis.

Tiriamieji, pildydami psichosocialinio vertinimo klausimyną, turėjo atsakyti ir į bendrus klausimus apie savo civilinę bei šeimyninę padėtį, išsilavinimą, atlyginimą, darbą, fizinį aktyvumą, rūkymo įpročius bei įvardinti, ar kada nors yra turėję problemų dėl alkoholio. Duomenys pateikiami procentine išraiška ir absoliučiuoju skaičiumi 4 lentelėje.

4 lentelė. Socioekonominiai duomenys.

Civilinė padėtis	(%), N
Vedęs/turi sugyventinį	73,8 % (149)
Nevedęs/išsiskyręs/našlys	26,2 % (53)
Šeimyninė padėtis	
Gyvena vienas	89,6 % (181)
Gyvena ne vienas	20,4 % (21)
Išsilavinimas	
Turi vidurinį/ aukštesnį išsilavinimą	6,93 % (14)
Turi aukštą išsilavinimą	93,07 % (188)
Atlyginimas per mėnesį	
<300 eurų	2,9 % (5)
300-700 eurų	14,4 % (29)
>700 eurų	82,7% (167)
Naktinis darbas	
Dirba naktinį darbą	12,9% (26)
Nedirba naktinio darbo	87,1% (176)
Papildomas darbas	
Dirba papildomą darbą	22,8% (46)
Nedirba papildomo darbo	77,2 % (156)
Fizinis aktyvumas darbe	
Dirba sėdimą darbą	69,8 % (141)
Nedirba sėdimą darbo	30,2% (61)

Fizinis aktyvumas laisvalaikiu	
Laisvalaikis neaktyvus	20,8% (42)
Aktyvus laisvalaikis	79,2% (160)
Rūkymas	
Rūko	18,8% (38)
Nerūko	81,2% (164)
Rūkymas anksčiau	
Rūkė anksčiau	48,5% (98)
Niekada nerūkė	51,5 % (104)
Problemų dėl alkoholio turėjimas	
Taip	41,6% (84)
Ne	58,4 % (118)

Psichosocialinio klausimyno vertinimas pateikiamas 5 lentelėje.

5 lentelė. Psichosocialinių testų rezultatai.

	Taškų skalės intervalas	Vidurkis \pm SD	Mediana
Darbo aplinka:			
Psichologiniai poreikiai	5 – 20	13,33 \pm 2,54	13
Sprendimų priėmimo galimybės	6 – 24	19,38 \pm 2,57	20
Įtampa darbe	0.2 – 3.3	0,7 \pm 0,19	0,68
Socialinė parama:			
Socialinė parama darbe	4 – 32	24,25 \pm 3,77	25
Emocinė parama	0 – 6	4,2 \pm 1,1	4
Socialinė integracija	6 – 36	19,60 \pm 5,51	19

Asmenybė:			
Gebėjimai susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	7 – 28	23,78 ± 3,18	24
Savigarba	10 – 40	31,38 ± 4,47	31
Vidinė darna	7 – 91	63,66 ± 9,95	64
Priešiškumas	48 – 240	132,82 ± 16,32	134
Imersija (įsitraukimas)	29 – 116	72,1 ± 10,63	71
Išsekimas	19 – 57	31,61 ± 8,01	31
Depresija	0 – 39	3,17 ± 3,47	2

3.2. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas jaunų (25 – 39 metų) ir vidutinio (40 – 55 metų) amžiaus vyrų grupėse.

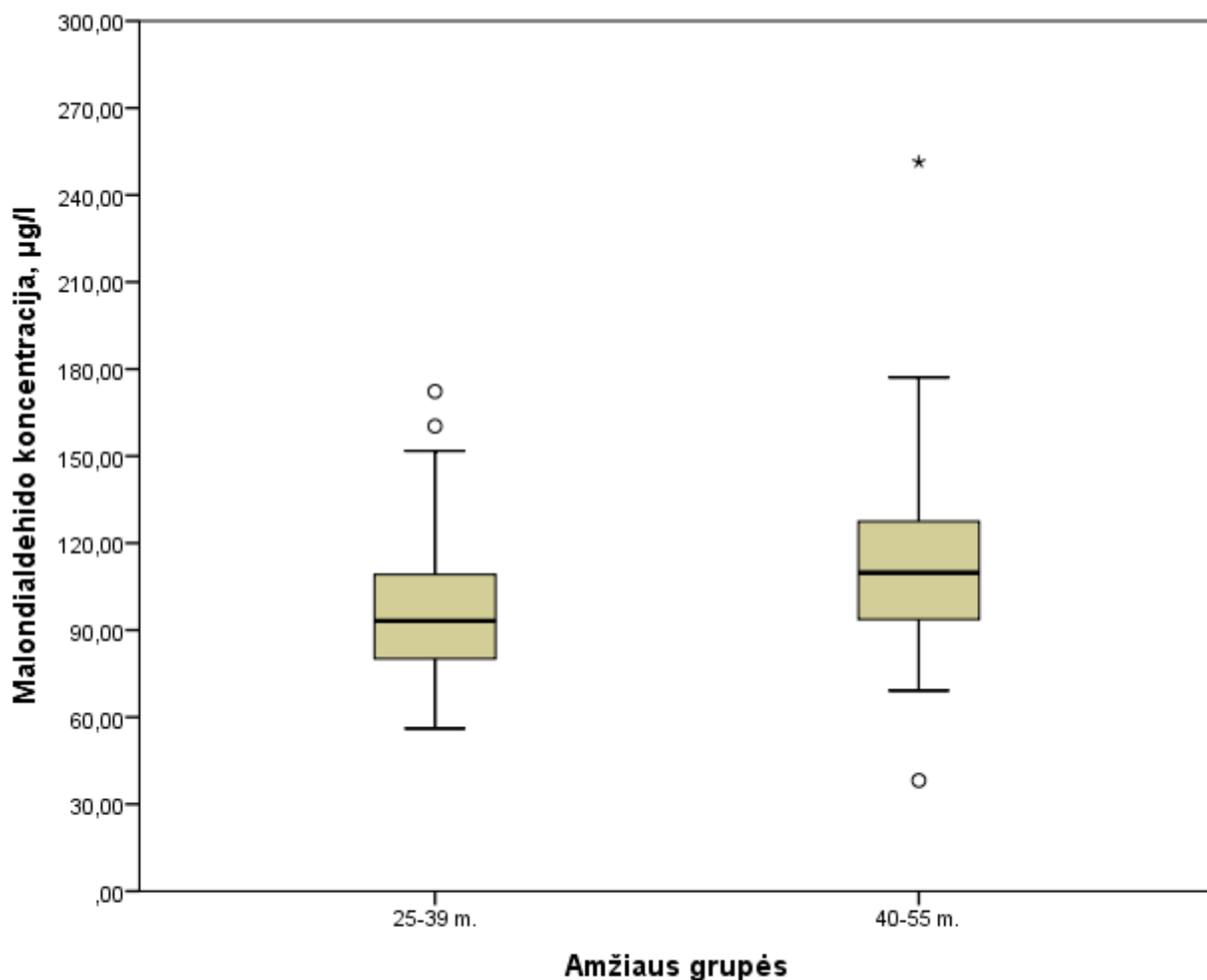
202 tiriamiesiems nustatyta malondialdehido koncentracijos mediana buvo 99,74 µg/l. Pirmosios amžiaus grupės MDA koncentracijos mediana (93,21 µg/l) yra mažesnė palyginus su antrosios amžiaus grupės mediana (109,77 µg/l). Palyginus mūsų gautas MDA reikšmes su rekomenduojamomis reikšmėmis sveikų vyrų kraujo serume (38,19 – 151, 32 µg/l) [28] nustatėme, kad 190 tiriamųjų (94,1%) MDA reikšmės pateko į rekomenduojamas MDA koncentracijos ribas. 11 pacientų (5,4%) buvo nustatytos didesnės, nei rekomenduojamos MDA koncentracijos (>151, 32 µg/l). Abiejose amžiaus grupėse buvo pacientų su padidėjusia MDA koncentracija. Pirmoje amžiaus grupėje (25 – 39 metų) padidėjusi MDA koncentracija buvo 3 tiriamiesiems, o antroje amžiaus grupėje (40 – 55 metų) padidėjusi MDA koncentracija buvo nustatytos 8 tiriamiesiems. 6 lentelėje ir 4 paveiksle pateikiama malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp dviejų vyrų amžiaus grupių.

6 lentelė. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp dviejų vyrų amžiaus grupių.

Amžius (metais)	Amžiaus grupė	N	Mediana	Q ₃ – Q ₁	Min	Max
25 – 39	1	126	94,09	110,32 – 80,64	56,03	172,29
40 – 55	2	76	111,13	131,31 – 94,25	38,16	251,42

Siekiant palyginti, ar MDA koncentracijos statistiškai reikšmingai skiriasi dviejose amžiaus grupėse, buvo atliktas Mann-Whitney U testas. Gauti rezultatai parodė, kad pirmos amžiaus grupės (25 – 39 metų) vyrų malondialdehido koncentracijos statistiškai reikšmingai ($p=0,0001$) skiriasi lyginant su antros amžiaus grupės (40 – 55 metų) vyrų malondialdehido koncentracijomis (4pav.).

Siekiant įvertinti malondialdehido ir amžiaus ryšį, buvo apskaičiuotas Spirmano koreliacijos koeficientas kuris parodė, kad tarp amžiaus ir MDA koncentracijos yra silpna ($r=0,302$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,0001$) koreliacija.



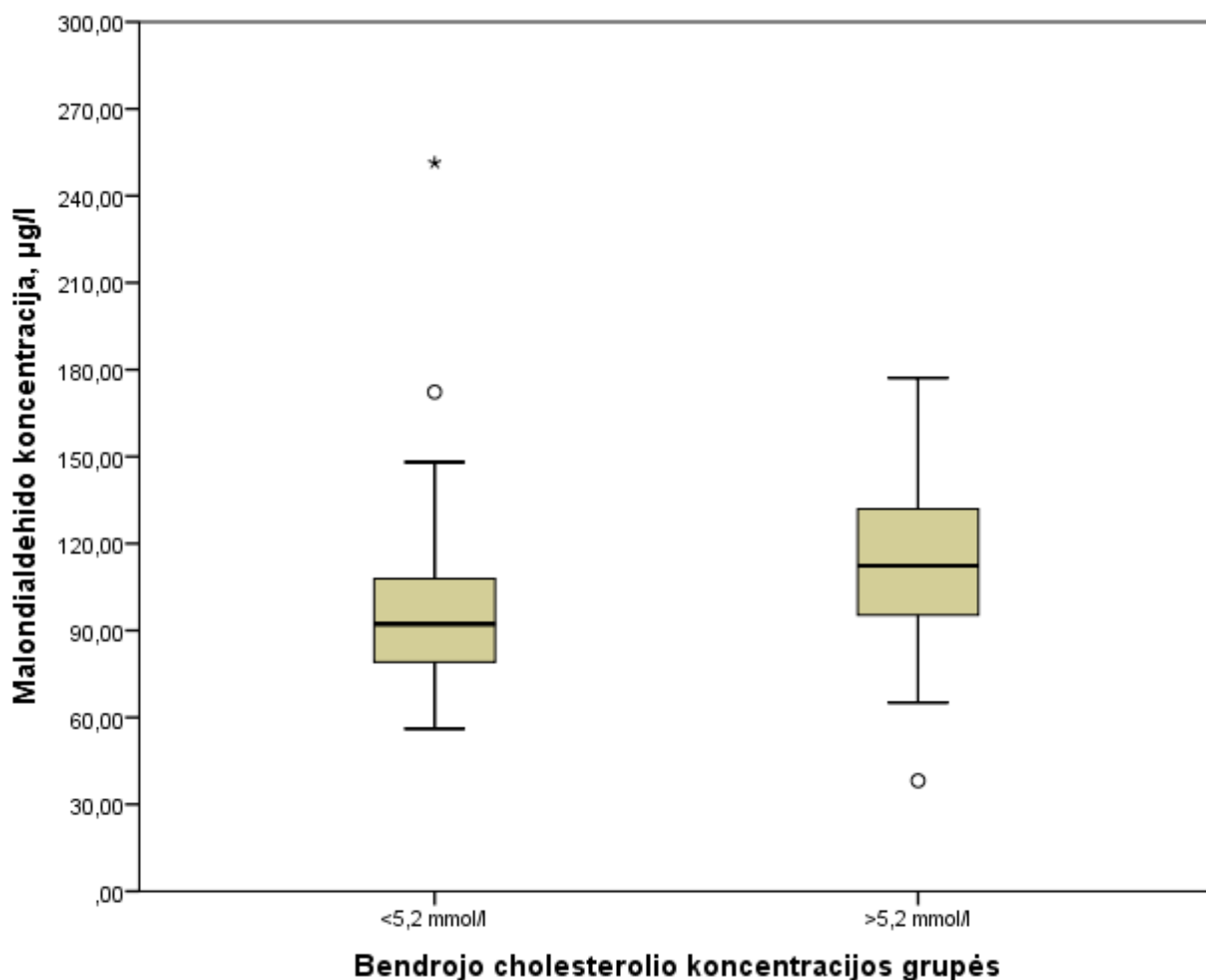
4 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp dviejų vyrų amžiaus grupių.

3.3 Malondialdehido koncentracijos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys

Bendrojo cholesterolio koncentracijos vidurkis tiriamiesiems buvo nustatytas $5,13 \pm 0,99$ mmol/l. Rekomenduojama bendrojo cholesterolio koncentracija ($<5,2$ mmol/l) buvo nustatyta 117 asmenims (57,9%). Didesnė, negu rekomenduojama ($>5,2$ mmol/l) bendrojo cholesterolio koncentracija buvo nustatyta 85 asmenims (42,1%).

Siekiant išsiaiškinti, ar tarp MDA koncentracijos ir bendrojo cholesterolio koncentracijos grupių yra statistiškai reikšmingas skirtumas, buvo atliktas Mann-Whitney U testas. Rezultatai parodė, kad tarp bendrojo cholesterolio pirmos ($<5,2$ mmol/l) ir antros ($>5,2$ mmol/l) koncentracijos grupių ir MDA koncentracijos yra statistiškai reikšmingas ($p=0,0001$) skirtumas (5 pav.)

Siekiant įvertinti bendrojo cholesterolio ir MDA koncentracijų tarpusavio ryšį, buvo apskaičiuotas Spirmano koreliacijos koeficientas, kuris parodė, kad tarp MDA ir bendrojo cholesterolio yra vidutiniška ($r=0,454$) ir statistiškai reikšminga ($r=0,454$) koreliacija.

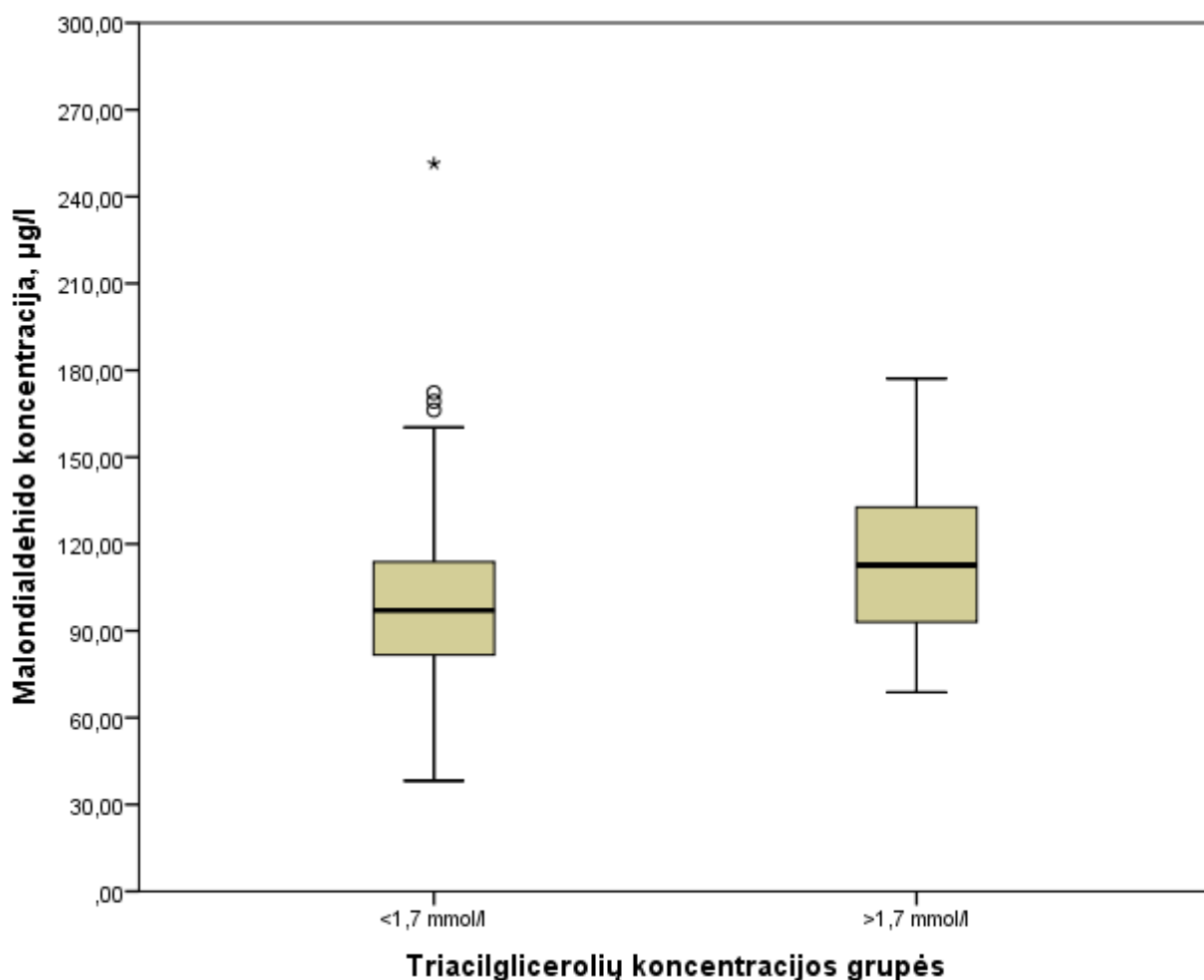


5 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp bendrojo cholesterolio koncentracijos grupių.

Triacilglicerolių koncentracijos mediana tiriamiesiems buvo nustatyta 1,17 mmol/l; mažiausia reikšmė buvo 0,41 mmol/l, o didžiausia - 9,94 mmol/l. 151 tiriamųjų (74,8%) triacilglicerolių koncentracijos atitiko rekomenduojamas reikšmes (<1,7 mmol/l). 51 tiriamojo (25,2%) TAG koncentracijos buvo aukštesnės, nei rekomenduojamos (>1,7 mmol/l).

Atlikus Mann-Whitney U testą, paaiškėjo, kad statistiškai reikšmingas ($p=0,001$) skirtumas buvo tarp pirmos (<1,7 mmol/l) ir antros (>1,7 mmol/l) triacilglicerolių koncentracijos grupių ir malondialdehido koncentracijos (6 pav.).

Siekiant išsiaiškinti triacilglicerolių ir malondialdehido koncentracijos ryšį, buvo apskaičiuotas Spirmano koreliacijos koeficientas, kuris parodė, kad tarp TAG ir MDA yra silpna ($r=0,305$), bet statistiškai reikšminga ($p=0,0001$) koreliacija.



6 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp triacilglicerolių koncentracijos grupių.

Didelio tankio lipoproteinų cholesterolio tiriamųjų koncentracijos mediana buvo 1,22 mmol/l; mažiausia reikšmė buvo 0,58 mmol/l, o didžiausia – 3,08 mmol/l. Rekomenduojamos DTL-Ch koncentracijos reikšmės (>0,91 mmol/l) buvo nustatytos 183 pacientams (90,6%), o

mažesnės, nei rekomenduojama DTL-Ch koncentracijos reikšmės (<91 mmol/l) buvo nustatytos 19 pacientų (9,4%).

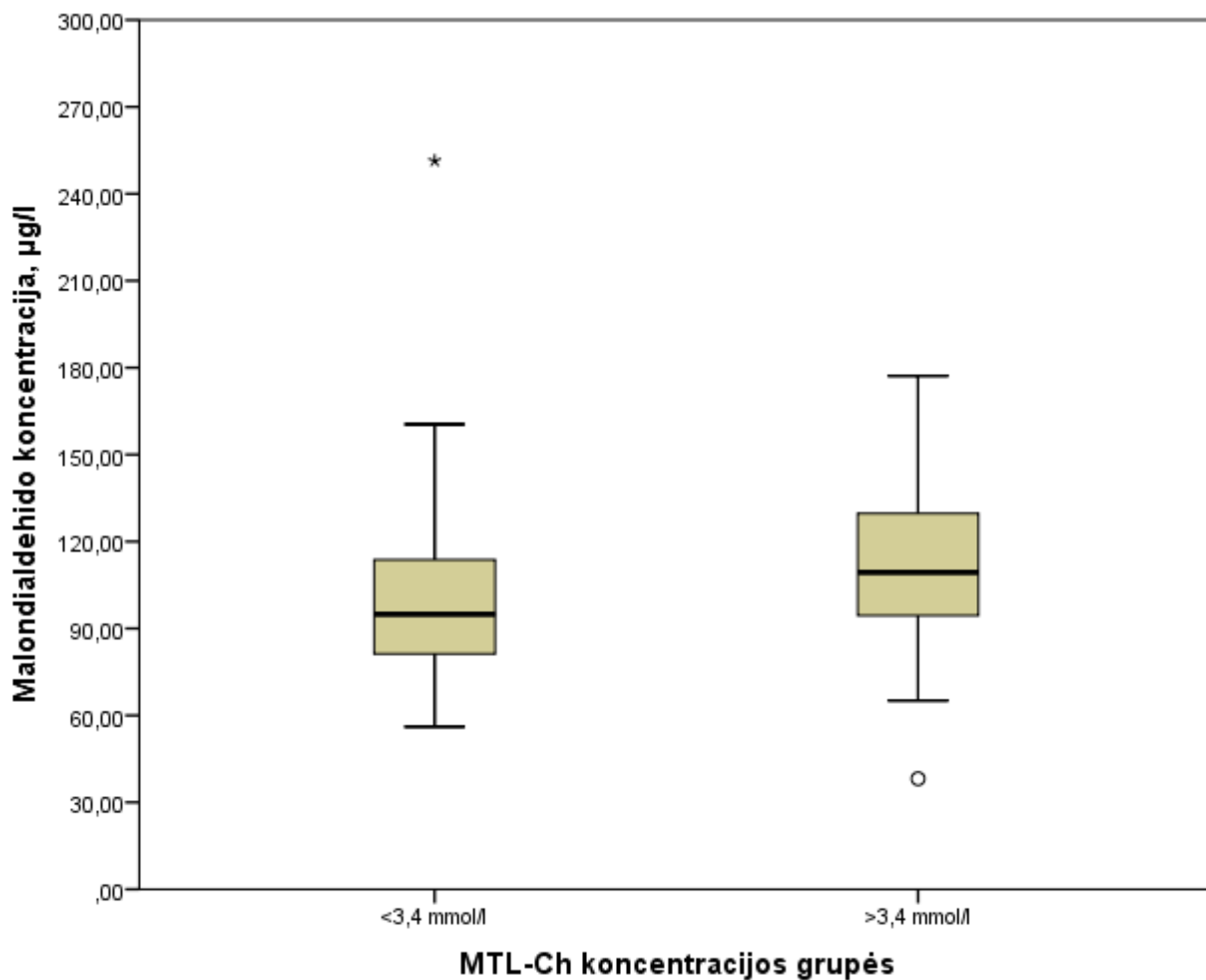
Atlikus Mann-Whitney U testą, statistiškai reikšmingo skirtumo tarp DTL koncentracijos grupių ($<0,91$ mmol/l) ir ($>0,91$ mmol/l) ir MDA koncentracijos nebuvo pastebėta.

Spirmano koreliacijos koeficientas parodė, kad tarp DTL-Ch ir MDA koncentracijos koreliacijos nėra.

Mažo tankio lipoproteinų cholesterolio tiriamųjų koncentracijos mediana buvo 3,20 mmol/l; mažiausia reikšmė buvo 1,20 mmol/l, o didžiausia – 5,93 mmol/l. 135 pacientams (66,8%) buvo nustatytos rekomenduojamos MTL-Ch koncentracijos reikšmės ($<3,4$ mmol/l). 67 pacientams (33,2%) buvo nustatytos didesnės, nei rekomenduojamos ($>3,4$ mmol/l) MTL-Ch koncentracijos reikšmės.

Atlikus Mann-Whitney U testą palyginimui tarp skirtingų MTL-Ch koncentracijas turinčių tiriamųjų grupių, buvo nustatyta, kad statistiškai reikšmingas ($p=0,0001$) skirtumas yra tarp pirmos ($<3,4$ mmol/l) ir antros ($>3,4$ mmol/l) MTL-Ch grupių koncentracijų ir MDA koncentracijos (7 pav.).

Spirmano koreliacijos koeficientas parodė, kad tarp MTL-Ch ir MDA koncentracijų yra silpna ($r=0,372$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,0001$) koreliacija.



7 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp MTL-Ch koncentracijos grupių.

7 lentelėje pateikiama malondialdehido koncentracijos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys. Iš lentelėje pateikto koreliacijos koeficiento r ir reikšmingumo lygmens p duomenų matome, kad stipriausias ryšys buvo tarp bendrojo cholesterolio ir malondialdehido koncentracijos.

7 lentelė. Malondialdehido koncentracijos ir lipidų apykaitos rodiklių ryšys.

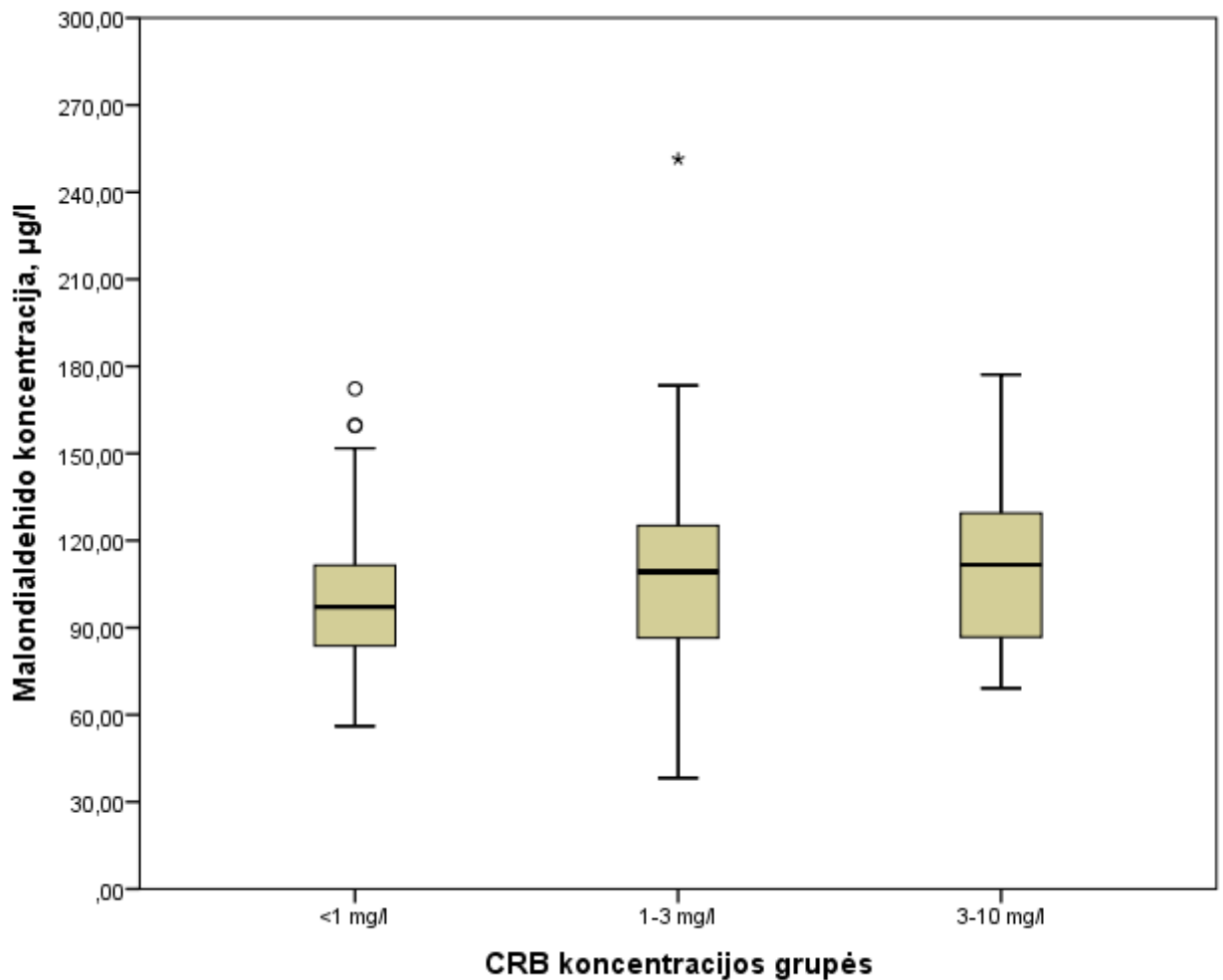
Rodiklis	MDA koncentracija, µg/l	
	r	P
Tiriamieji (N=202)		
Bendrojo cholesterolio koncentracija, mmol/l	0,454	0,0001
Triacilglicerolių koncentracija, mmol/l	0,305	0,0001
DTL-Ch koncentracija, mmol/l	0,115	0,103
MTL-Ch koncentracija, mmol/l	0,372	0,0001

3.4. Malondialdehido koncentracijos ir uždegimo žymens C- reaktyvaus baltymo ryšys

C – reaktyvaus baltymo koncentracijos mediana tiriamiesiems buvo nustatyta 0,64 mg/l. Mažiausia CRB koncentracija buvo nustatyta 0,1 mg/l, o didžiausia – 31mg/l. 133 pacientų (65,8%) CRB koncentracijos atitiko rekomenduojamas reikšmes (<1 mg/l) ir priklausė pirmajai grupei su nedidele širdies ir kraujagyslių ligų rizika. 54 pacientams (26,7%) CRB koncentracijos reikšmės buvo nustatytos intervale (1 – 3 mg/l) ir šie pacientai pateko į antrąją, vidutinės širdies ir kraujagyslių ligų rizikos grupę. Trečiajai grupei priklausė 14 pacientų (6,9%), su didele širdies ir kraujagyslių ligų rizika; jiems CRB koncentracija buvo nustatyta intervale (3 – 10 mg/l). 1 pacientui CRB koncentracija buvo nustatyta 31 mg/l.

Atlikus Mann-Whitney U testą, statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,026$) buvo pastebėtas tik tarp pirmos CRB grupės (<1 mg/l) ir antros CRB grupės (1 – 3 mg/l) ir MDA koncentracijų (8pav.). Tarp kitų C – reaktyvaus baltymo grupių koncentracijų ir malondialdehido koncentracijos reikšmingų skirtumų nebuvo.

Siekiant išsiaiškinti, ar tarp CRB ir MDA koncentracijų yra ryšys, buvo apskaičiuotas Spirmano koreliacijos koeficientas, kuris parodė, kad tarp CRB ir MDA koncentracijų yra labai silpna ($r=0,160$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,023$) koreliacija.



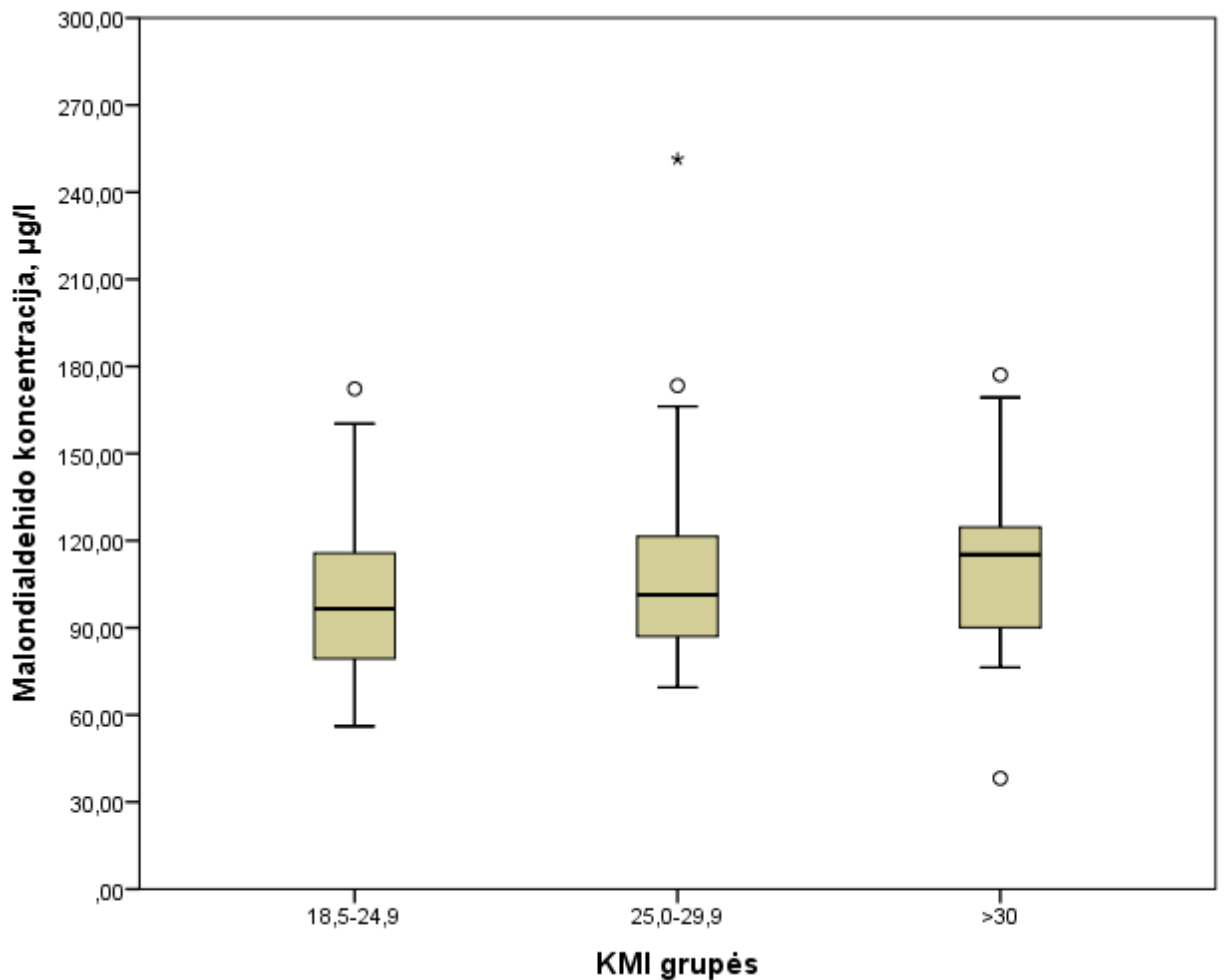
8 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp CRB koncentracijos grupių.

3.5. Malondialdehido koncentracijos ir kūno masės indekso ryšys

Tiriamiesiems, išmatavus jų ūgį ir svorį, buvo paskaičiuotas kūno masės indeksas (KMI). 1 tiriamojo (0,5%) kūno masės indeksas buvo mažesnis, nei rekomenduojamos normos (KMI <18,5). Didžiausią grupę sudarė 100 tiriamųjų (49,5%), kurių KMI buvo normalus, tarp 18,5 ir 24,9. Antsvoris, kai KMI yra tarp 25,0 ir 29,9, buvo nustatytas 77 (38,1%) asmenims. Nutukimas, kai KMI > 30, buvo nustatytas 24 tiriamiesiems (11,9%).

Palyginimui tarp skirtingų KMI grupių ir MDA koncentracijos buvo atliktas Mann-Whitney U testas, kuris parodė, kad statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,024$) buvo tik tarp normalaus KMI (18,5 – 24,9) ir nutukimo (KMI >30) ir MDA koncentracijos (9pav.). Tarp kitų KMI grupių ir MDA koncentracijos statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo.

Spirmano koreliacijos koeficientas parodė, kad tarp kūno masės indekso ir malondialdehido koncentracijos yra silpna ($r=0,235$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,001$) koreliacija.



9 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp KMI grupių.

3.6. Malondialdehido koncentracijos ir rūkymo ryšys

Atlikus apklausą apie tiriamųjų rūkymo įpročius paaiškėjo, kad šiuo metu rūkantys yra 38 (18,8%) asmenys, o nerūkantys – 164 (81,2%). Anksčiau rūkę teigė esantys 98 tiriamieji (48,5%), o niekada nerūkę – 104 (51,5%) tiriamieji. Malondialdehido koncentracijos mediana rūkančių pacientų buvo 109,17 µg/l, o nerūkančiųjų - 97,12 µg/l. Anksčiau rūkusiųjų asmenų MDA koncentracijos mediana buvo 102,7 µg/l, o niekada nerūkusiųjų asmenų MDA koncentracijos mediana - 96,91 µg/l. 8 lentelėje bei 10 ir 11 paveiksluose pateikiama malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp įvairių rūkymo grupių.

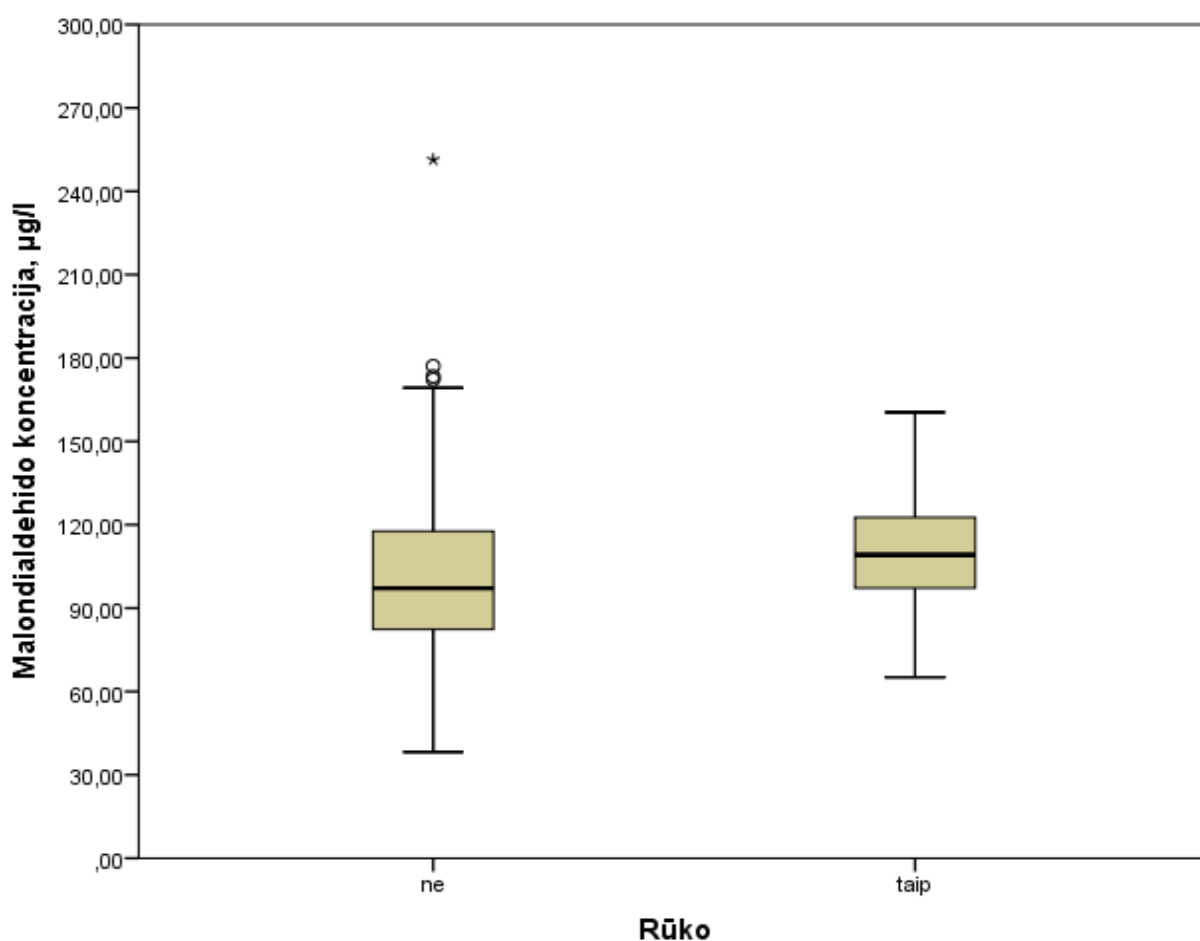
8 lentelė. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp rūkymo grupių.

Rūkymas dabar	N	Mediana	Q ₃ – Q ₁	Min	Max
Ne	164	97,12	117,72 – 82,06	38,16	251,42
Taip	34	109,17	122,67 – 95,59	65,11	160,45
Rūkymas anksčiau	N	Mediana	Q ₃ – Q ₁	Min	Max

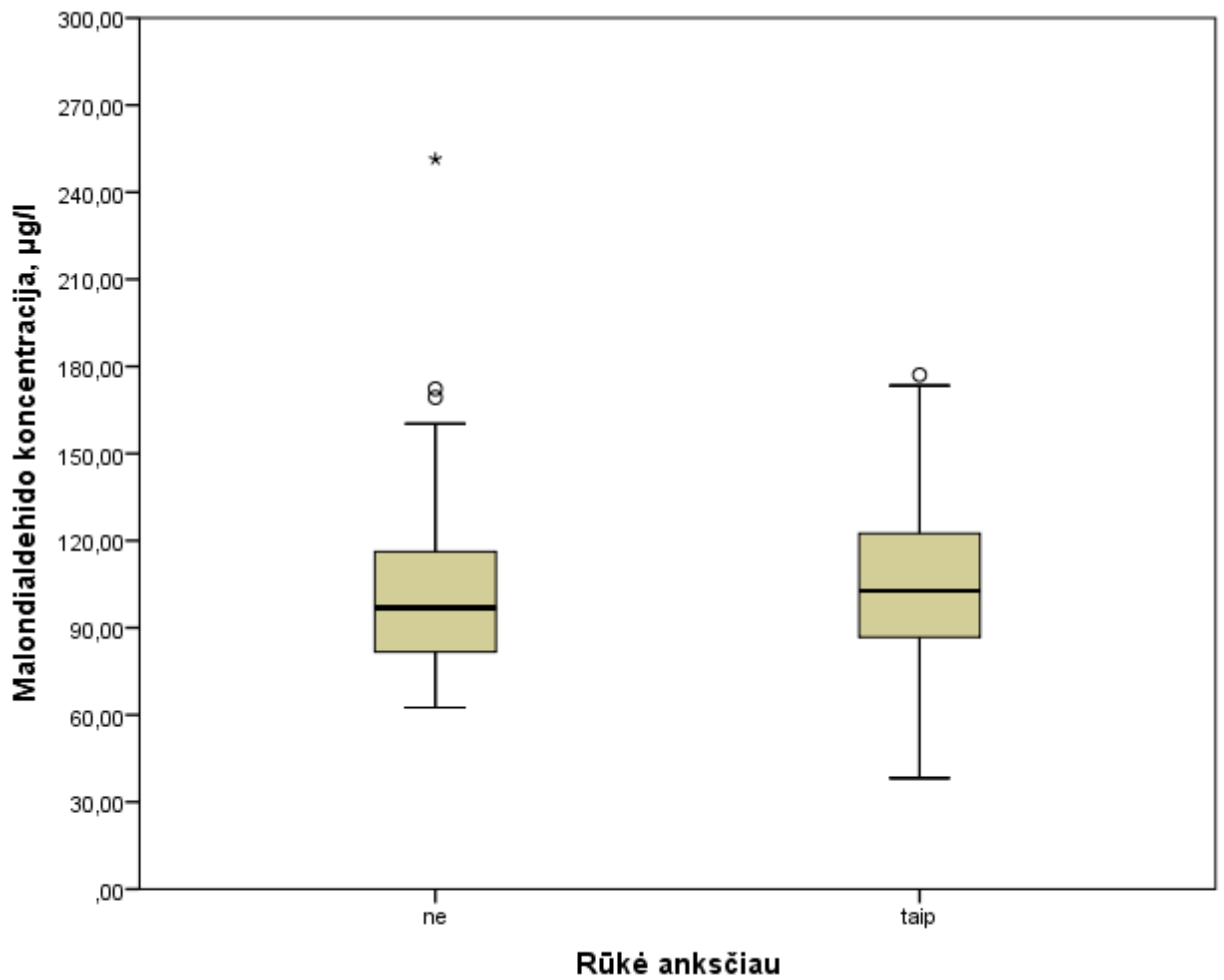
Ne	104	96, 91	116,32 – 81, 62	62,47	251,42
Taip	98	102, 7	122,52 – 86,61	38,16	177,11

Siekiant išsiaiškinti, ar tarp MDA koncentracijos ir rūkymo yra statistiškai reikšmingas skirtumas buvo atliktas Mann-Whitney testas, kuris parodė, kad tarp MDA koncentracijos ir tarp šiuo metu rūkančiųjų ir nerūkančiųjų asmenų statistiškai reikšmingo ($p=0,058$) skirtumo nėra. Taip pat statistiškai reikšmingo ($p=0,133$) skirtumo nebuvo ir tarp MDA koncentracijos bei anksčiau rūkusiųjų ir niekada nerūkusiųjų asmenų

Siekiant išsiaiškinti, ar tarp MDA koncentracijos ir rūkymo yra ryšys, buvo atliktas Spirmano koreliacijos testas, kuris parodė, kad tarp MDA koncentracijos ir rūkymo koreliacijos nėra. Taip pat nebuvo koreliacijos tarp malondialdehido koncentracijos ir rūkymo anksčiau.



10 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp rūkančių ir nerūkančių vyrų.



11 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas tarp anksčiau rūkusių ir niekada nerūkusių vyrų.

3.7. Malondialdehido koncentracijos ir psichosocialinio streso ryšys

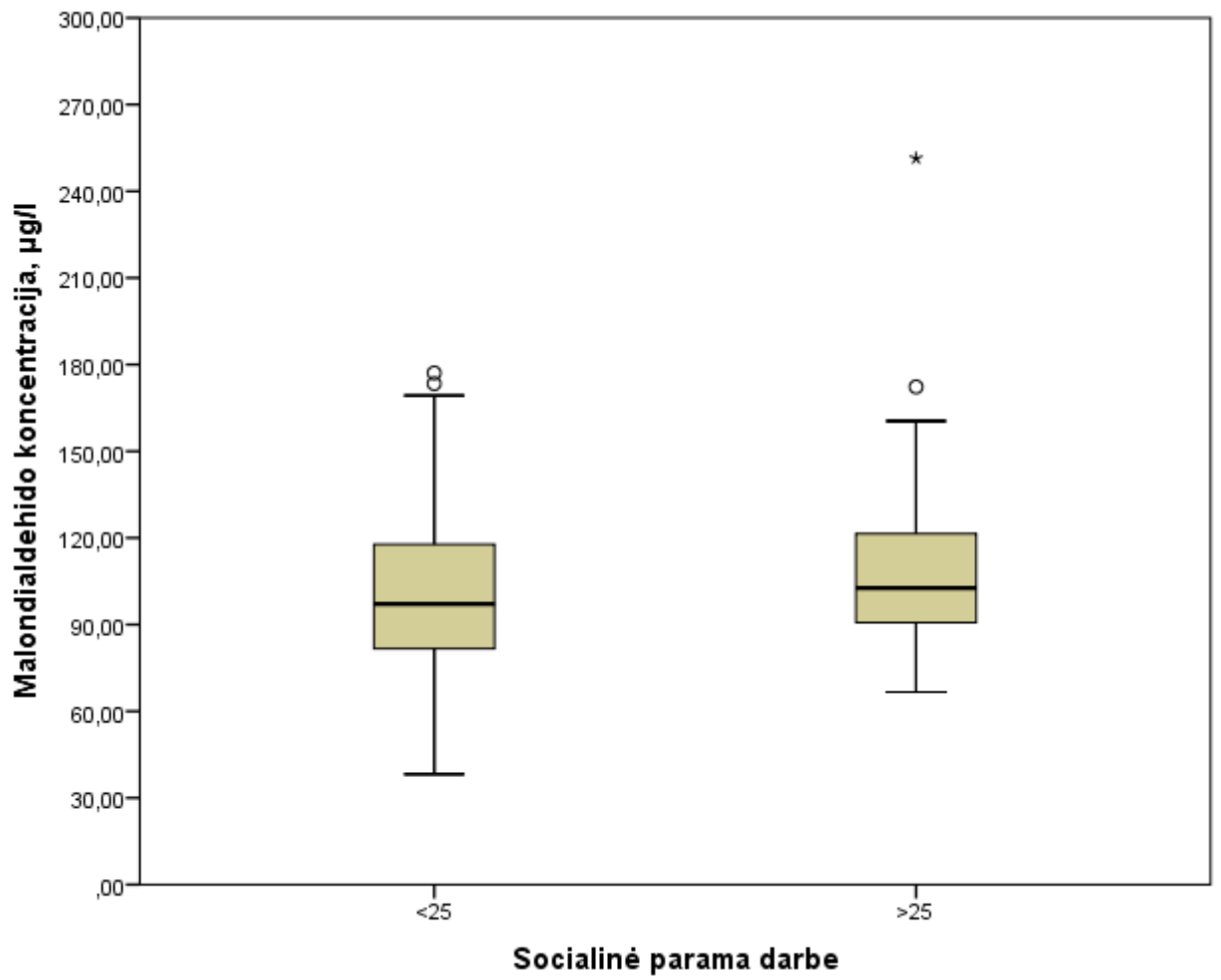
Tyrimo metu buvo siekiama išsiaiškinti ar yra statistiškai reikšmingas ryšys tarp malondialdehido koncentracijos ir atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių įvertinimo balais. Atlikus Spirmano koreliacijos testą paaiškėjo, kad labai silpna ($r=0,185$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,009$) koreliacija buvo nustatyta tarp MDA koncentracijos ir socialinės paramos darbe; tarp MDA ir vidinės darnos ($r=0,171$; $p=0,015$) ir tarp MDA ir priešiško (rivališko) (rivališko) ($r=0,143$; $p=0,042$). Tarp kitų atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių ir MDA koncentracijos koreliacijos nebuvo, arba ji buvo statistiškai nereikšminga (9 lentelė).

9 lentelė. Malondialdehido koncentracijos ryšys su psichosocialinio streso vertinimo dalimis.

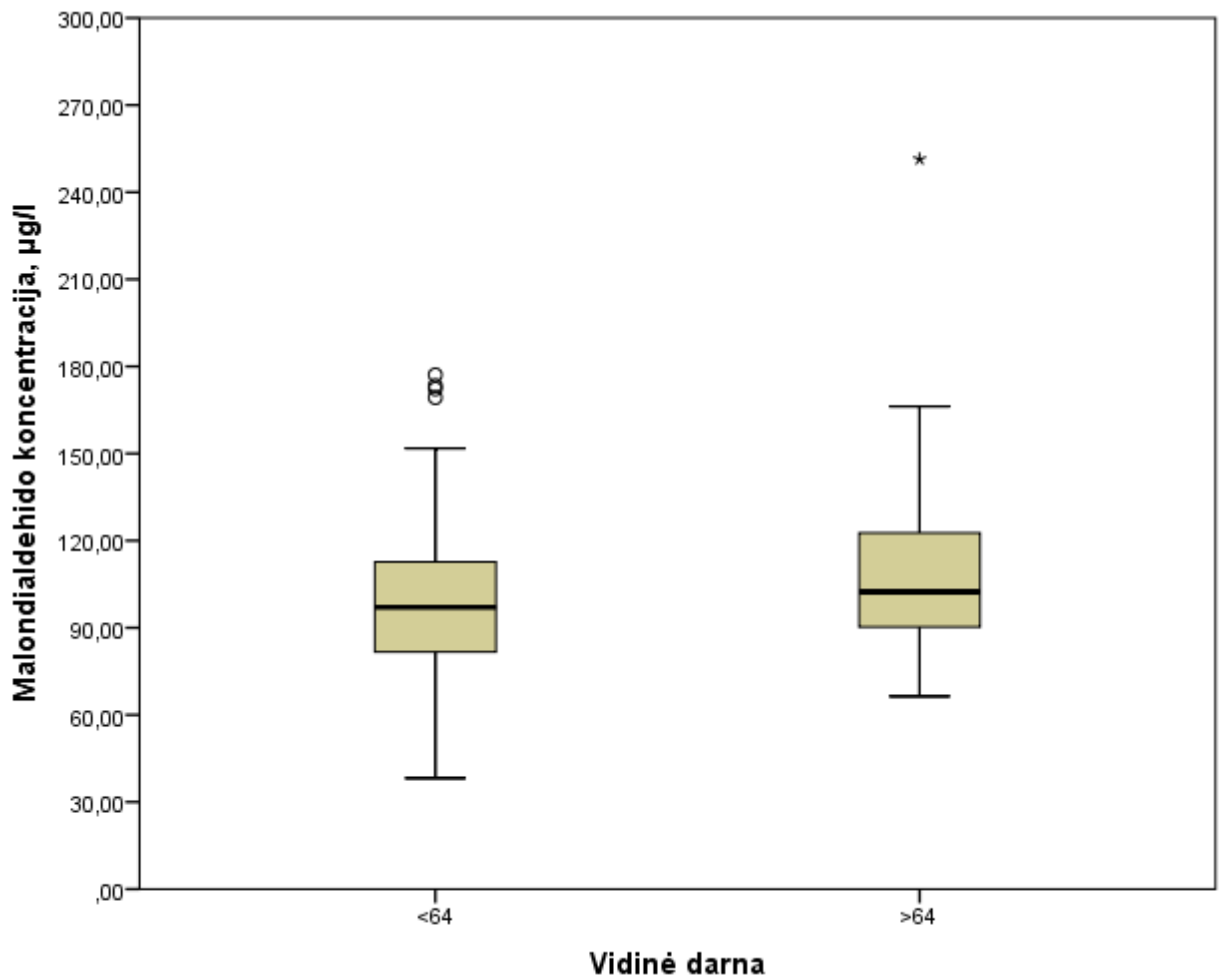
	Koreliacijos koeficientas r	p
Darbo aplinka:		
Psichologiniai poreikiai	-0,125	0,078

Sprendimų priėmimo galimybės	0,014	0,844
Įtampa darbe	-0,114	0,107
Socialinė parama:		
Socialinė parama darbe	0,185	0,009
Emocinė parama	0,030	0,672
Socialinė integracija	0,070	0,319
Asmenybė:		
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	0,046	0,514
Savigarba	-0,005	0,940
Vidinė darna	0,171	0,015
Priešiškumas	0,143	0,042
Imersija (įsitraukimas)	-0,075	0,291
Išsekimas	-0,067	0,344
Depresija	-0,045	0,291

Tolimesnei analizei kiekvienos klausimyno dalies rezultatai buvo suskirstyti pagal medianą į dvi grupes: iki medianos ir po medianos. Siekiant išsiaiškinti ar tarp MDA koncentracijos ir atskirų streso vertinimo klausimyno dalių buvo statistiškai reikšmingas skirtumas buvo atliktas Mann-Whitney U testas. Testo rezultatai parodė, kad statistiškai reikšmingas MDA koncentracijos skirtumas ($p=0,042$) buvo tarp socialinės paramos darbe grupių (12 pav.). Socialinės paramos darbe grupėje iki medianos MDA koncentracijos mediana buvo 97,16 $\mu\text{g/l}$, o grupėje po medianos MDA koncentracijos mediana buvo 102,6 $\mu\text{g/l}$. Taip pat statistiškai reikšmingas MDA koncentracijos skirtumas ($p=0,029$) buvo tarp vidinės darnos grupių (13 pav.). Vidinės darnos grupėje iki medianos MDA koncentracijos mediana buvo 97,07 $\mu\text{g/l}$, o grupėje po medianos MDA koncentracijos mediana buvo 102,34 $\mu\text{g/l}$. Tarp likusiųjų psichosocialinio streso vertinimo dalių rezultatų iki medianos ir po medianos ir MDA koncentracijos statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo.



12 pav. Malondialdehido koncentracija socialinės paramos darbe grupėse iki medianos ir po medianos.



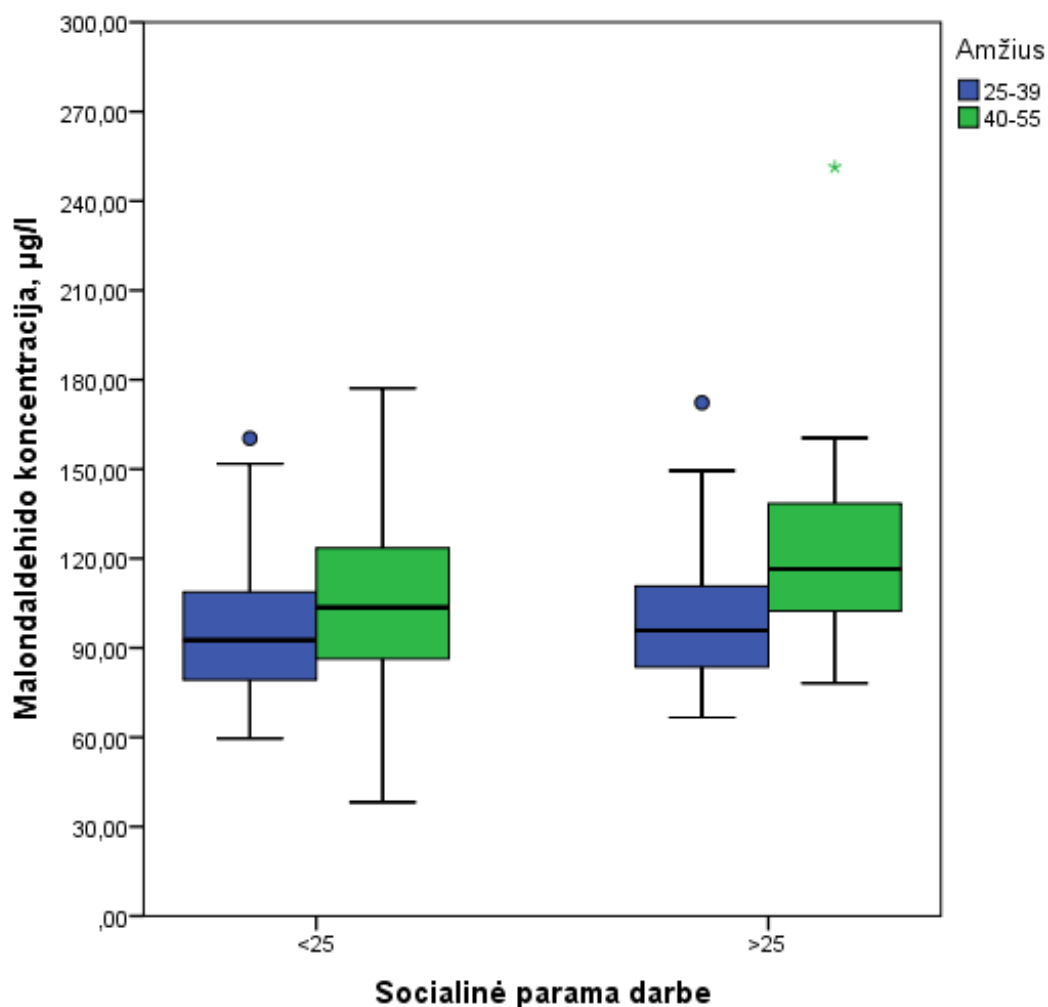
13 pav. Malondialdehido koncentracija vidinės darnos grupėse iki medianos ir po medianos.

Toliau buvo siekiama išsiaiškinti, ar skirtingose amžiaus grupėse tarp psichosocialinio streso vertinimo aspektų (socialinės paramos darbe ir vidinės darnos) grupių iki medianos ir po medianos ir tarp MDA koncentracijos yra statistiškai reikšmingas skirtumas. Įvertinimui duomenys buvo sugrupuoti į keturias grupes:

- 1 grupė – 1 amžiaus grupė/ reikšmė iki medianos;
- 2 grupė – 2 amžiaus grupė/ reikšmė iki medianos;
- 3 grupė – 1 amžiaus grupė/ reikšmė po medianos;
- 4 grupė – 2 amžiaus grupė/ reikšmė po medianos.

Palyginimui tarp socialinės paramos darbe reikšmių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą ir MDA koncentracijos, buvo atliktas Kruskal-Wallis H testas. Testo rezultatai parodė, kad tarp MDA koncentracijos ir socialinės paramos darbe reikšmių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą, yra statistiškai reikšmingas ($p=0,0001$) skirtumas (14 pav.). Atlikus Mann-Whitney U testą,

siekiant išsiaiškinti, ar buvo statistiškai reikšmingų skirtumų tarp MDA ir atskirų socialinės paramos darbe reikšmių grupių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą, paaiškėjo, kad statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,0001$) yra tarp MDA koncentracijos ir 1 ir 4 socialinės paramos darbe grupių, taip pat statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,001$) buvo tarp MDA koncentracijos ir 2 ir 4 socialinės paramos darbe grupių bei tarp MDA koncentracijos ir 1 ir 3 socialinės paramos darbe grupių ($p=0,006$). Tarp kitų MDA koncentracijos ir socialinės paramos darbe grupių statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo.



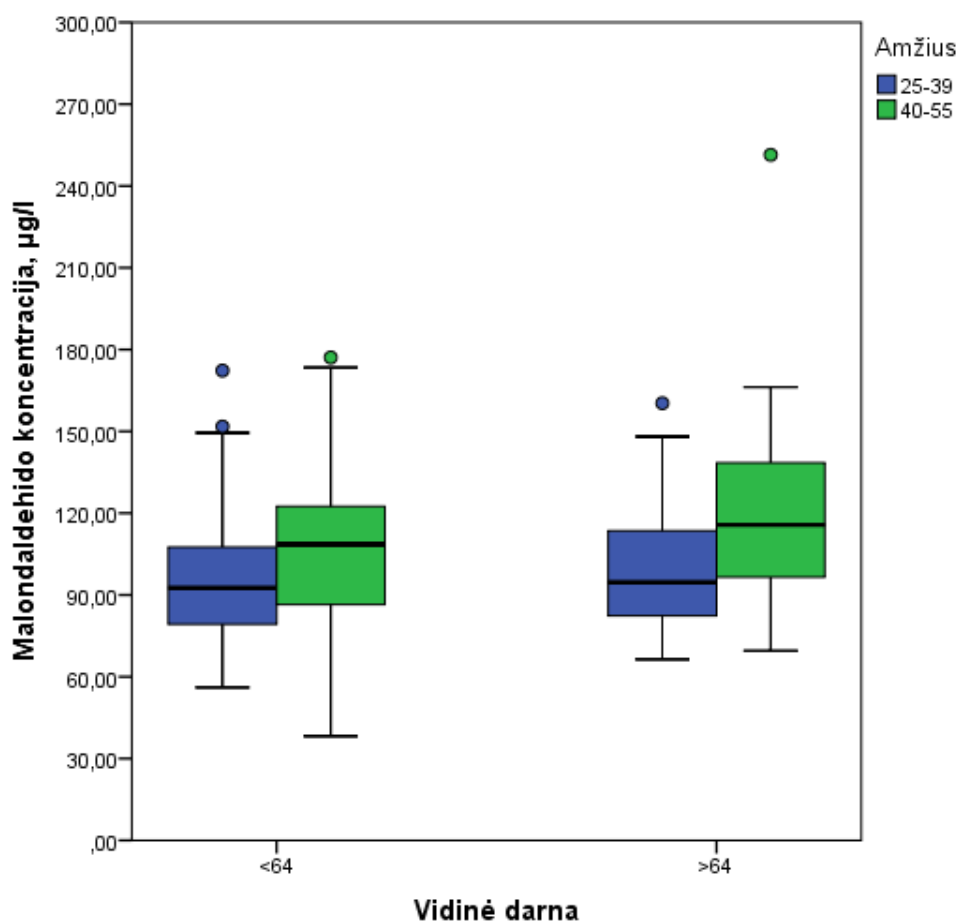
14 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas socialinės paramos darbe grupėse pagal amžių.

Tokiu pačių principu buvo siekiama išsiaiškinti, ar yra statistiškai reikšmingas skirtumas tarp vidinės darnos grupių iki medianos ir po medianos skirtingose amžiaus grupėse ir tarp MDA koncentracijos. Įvertinimui duomenys buvo sugrupuoti į keturias grupes:

- 1 grupė – 1 amžiaus grupė/ reikšmė iki medianos;
- 2 grupė – 2 amžiaus grupė/ reikšmė iki medianos;
- 3 grupė – 1 amžiaus grupė/ reikšmė po medianos;

4 grupė – 2 amžiaus grupė/ reikšmė po medianos.

Palyginimui tarp vidinės darnos reikšmių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą ir MDA koncentracijos buvo atliktas Kruskal-Wallis H testas. Testo rezultatai parodė, kad tarp MDA koncentracijos ir vidinės darnos reikšmių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą, yra statistiškai reikšmingas ($p=0,0001$) skirtumas (15 pav.). Atlikus Mann-Whitney U testą, siekiant išsiaiškinti, ar buvo statistiškai reikšmingas skirtumas tarp MDA ir atskirų vidinės darnos reikšmių grupių, sugrupuotų pagal amžių ir medianą, paaiškėjo, kad statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,014$) buvo tarp MDA koncentracijos ir 1 ir 3 vidinės darnos grupių, taip pat statistiškai reikšmingas skirtumas ($p=0,0001$) buvo tarp MDA koncentracijos ir 1 ir 4 vidinės darnos grupių ir tarp MDA koncentracijos ir 2 ir 4 vidinės darnos grupių ($p=0,0001$).



15 pav. Malondialdehido koncentracijos pasiskirstymas vidinės darnos grupėse pagal amžių.

10 lentelėje pateikiama MDA koncentracijos mediana psichosocialinio streso vertinimo dalių - socialinės paramos darbe ir vidinės darnos grupėse pagal amžių ir medianą.

10 lentelė. MDA koncentracijos mediana socialinės paramos darbe ir vidinės darnos grupėse pagal amžių ir medianą.

Socialinė parama darbe iki medianos	25 - 39	81,25
	40 - 55	91,33
Socialinė parama darbe po medianos	25 - 39	111,38
	40 - 55	135,07
Vidinė darna iki medianos	25 - 39	83,24
	40 - 55	88,58
Vidinė darna po medianos	25 - 39	112,59
	40 - 55	130,70

Dar buvo siekiama įvertinti, ar tarp įtampos darbe ir MDA koncentracijos yra statistiškai reikšmingas skirtumas. Duomenys buvo suskirstyti į tris grupes:

- 1 grupė – didelė įtampa;
- 2 grupė – vidutinė įtampa
- 3 grupė – maža įtampa.

Palyginimui tarp grupių atlikus Kruskall-Wallis H testą statistiškai reikšmingo skirtumo tarp MDA koncentracijos ir įtampos darbe grupių nebuvo.

Taip pat buvo siekiama įvertinti ar tarp psichosocialinio streso vertinimo aspektų apie darbo aplinką (sprendimo priėmimo galimybių ir psichologinių poreikių) ir MDA koncentracijos yra statistiškai reikšmingas skirtumas. Tam tikslui sprendimo priėmimo galimybių ir psichologinių poreikių įverčiai buvo sugrupuoti į 4 grupes:

- 1 grupė – dideli poreikiai/ didelės sprendimų priėmimo galimybės;
- 2 grupė – dideli poreikiai/ mažos sprendimų priėmimo galimybės;
- 3 grupė – maži poreikiai/ didelės sprendimų priėmimo galimybės;
- 4 grupė – maži poreikiai/ mažos sprendimų priėmimo galimybės.

Palyginimui tarp grupių atlikus Kruskall-Wallis H testą, statistiškai reikšmingo skirtumo tarp MDA koncentracijos ir darbo aplinkos aspektų (sprendimo priėmimo galimybių ir psichologinių poreikių) nebuvo.

REZULTATŲ APTARIMAS

Oksidacinis stresas yra organizmo būseną, kai tarp reaktyviųjų deguonies metabolitų (laisvųjų radikalų) ir antioksidantų susidaro disbalansas. Šio proceso metu pažeidžiamos biologinės molekulės – baltymai, lipidai, angliavandeniai, nukleotidai. Oksidacinis stresas susijęs su daugelio lėtinių ligų patogenezė – ateroskleroze, vėžiu, uždegimu, taip pat yra labai svarbus senėjimo procese [20, 21]. Oksidacinio streso įtaka aterosklerozei pasireiškia, kai reaktyviosios deguonies formos sukelia lipidų peroksidaciją. Tradicinio oksidacinio streso bei lipidų peroksidacijos žymens malondialdehido koncentracija kraujo serume atspindi laisvųjų radikalų sukeltą lipidų peroksidacijos produktų susidarymą [8, 10]. Taip pat manoma, kad aterosklerozės patogenezėi didelės įtakos turi ir patiriamas psichologinis bei socialinis stresas [33]. Šiame darbe buvo siekiama palyginti malondialdehido koncentracijos bei amžiaus, lipidų apykaitos rodiklių, uždegimo žymenų, KMI, rūkymo ir psichosocialinio streso tarpusavio ryšį.

Šio tyrimo metu nustatėme, kad 94,1% tiriamųjų (N=190) MDA koncentracija kraujo serume buvo rekomenduojamose ribose (38,19 – 151,32 µg/l). 11 pacientų (5,4%) buvo nustatytos didesnės, nei rekomenduojamos MDA koncentracijos (>151,32 µg/l). Palyginus mūsų gautų rezultatų duomenis su kitų Lietuvoje ir pasaulyje atliktų tyrimų kontrolinėmis tiriamųjų grupėmis nustatėme, kad mūsų apskaičiuota tiriamųjų vyrų MDA koncentracijos mediana buvo 99,74 µg/l (N=202). Kitų Lietuvoje ir pasaulyje atliktų tyrimų metu MDA koncentracijos buvo nustatytos tokios: 341,56 ± 47,56 µg/l (N=187) [30]; 363,18 ± 56,92 µg/l (N=359) [31]; 209,69 ± 60,53 µg/l (N=45) [32]; 87,91 ± 1,44 µg/l (N=30) [33]; 234,56 ± 67,38 µg/l (N=55) [46]. Mūsų atveju nustatyta MDA koncentracijos mediana daugeliu atvejų buvo mažesnė, nei kitų atliktų tyrimų metu.

MDA ir amžius. Manoma, kad padidėjęs oksidacinis stresas dėl organizme besikaupiančių laisvųjų radikalų yra susijęs su senėjimo procesais [46]. Savo darbe nustatėme, kad tarp MDA ir amžiaus yra silpna ($r=0,302$), tačiau statistiškai reikšminga ($p=0,0001$) koreliacija. Palyginę dvi amžiaus grupes tarpusavyje – jaunas (25 – 39 metų) ir vidutinio amžiaus (40 – 55 metų) vyrus nustatėme, kad MDA koncentracija buvo statistiškai reikšmingai ($p=0,0001$) didesnė vidutinio amžiaus vyrų grupėje (N=126), (MDA koncentracijos mediana 111,13 µg/l) lyginant su jaunų vyrų amžiaus grupe (N=76), (MDA koncentracijos mediana 94,09 µg/l). *U. M. Turkoglu* su kolegomis savo atliktame tyrime [46] taip pat nustatė, kad jaunų vyrų amžiaus grupėje (21 – 40 metų) MDA koncentracijos vidurkis (183,75 ± 54,05 µg/l) statistiškai reikšmingai ($p<0,001$) buvo mažesnis lyginant su vyresnio amžiaus vyrų grupės (61 – 85 metų) MDA koncentracijos vidurkiu (285,36 ± 80,71 µg/l). Autoriai taip pat nustatė, kad tarp MDA koncentracijos ir amžiaus yra vidutiniška ($r=0,633$), tačiau statistiškai reikšminga

koreliacija ($p < 0,001$). Taigi, galima daryti išvadą, kad MDA, oksidacinio streso žymens, koncentracija didėja su amžiumi.

MDA ir lipidų apykaitos rodikliai. Yra žinoma, kad hiperlipoproteinemija ir hiperlipidemija lemia aterosklerozinį kraujagyslių pažeidimą. Padidėjusios MTL, bendrojo cholesterolio ir trigliceridų koncentracijos bei sumažėjusi DTL koncentracija kraujyje, didina riziką sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis (pavyzdžiui, ateroskleroze). Didelio tankio lipoproteinai, pernešdami cholesterolį iš audinių į kepenis, neleidžia jam kauptis ant arterijos sienelių, todėl jie dar vadinami antiaterogeniniais. Oksidacinis stresas ir aterosklerozė tiesiogiai yra susiję tuo, kad oksidacinio streso metu pasigaminę laisvieji deguonies radikalai gali oksiduoti mažo tankio lipoproteinus. Ši MTL forma lemia įvairius aterosklerozinius procesus – skatina endotelio disfunkciją, aterosklerotinės plokštelės formavimąsi, trombų susidarymą ir kt. [2, 34]. Savo darbe tyrėme lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio, trigliceridų, MTL-Ch, DTL-Ch) ir MDA koncentracijos tarpusavio ryšį. Nustatėme, kad mūsų tiriamųjų bendrojo cholesterolio koncentracijos vidurkis ($5,13 \pm 0,99$ mmol/l), triacilglicerolių koncentracijos mediana (1,17 mmol/l), MTL-Ch koncentracijos mediana (3,20 mmol/l) bei DTL-Ch koncentracijos mediana (1,22 mmol/l) atitiko rekomenduojamas reikšmes. Nustatėme, kad MDA koncentracija statistiškai reikšmingai skyrėsi ($p \leq 0,001$) tarp rekomenduojamas lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių ir MTL-Ch) koncentracijas turinčių tiriamųjų grupės ir tiriamųjų grupės, kurios lipidų apykaitos rodikliai buvo didesni negu norma. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp MDA koncentracijos ir tiriamųjų, kuriems buvo nustatyta rekomenduojama DTL-Ch koncentracija bei tiriamųjų, kurių DTL-Ch koncentracija buvo mažesnė nei norma, nebuvo. Taip pat savo darbe nustatėme, kad MDA statistiškai reikšmingai ($p = 0,0001$) koreliuoja su šiais lipidų apykaitos rodikliais – bendruoju cholesteroliu, triacilgliceroliais ir MTL-Ch. Stipriausia koreliacija ($r = 0,454$) buvo tarp MDA ir bendrojo cholesterolio koncentracijų. Taigi, galima daryti išvadą, kad didėjant bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių ir MTL-Ch koncentracijoms kraujyje, didėja ir MDA koncentracija.

MDA ir CRB. Dabartinės su ateroskleroze susijusios teorijos teigia, kad aterosklerozė yra liga, kuriai būdinga ne tik lipidų sankaupos, bet ir uždegiminiai procesai. Manoma, kad uždegimas turi įtakos aterosklerozinės plokštelės atsiradimui, progresavimui ir destabilizacijai. Vienas iš tokių uždegimo žymenų yra C – reaktyvusis baltymas (CRB). Didelio jautrumo CRB nustatymas yra svarbus rizikos faktorius diagnozuojant besimptomius šios ligos atvejus [4, 47]. Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad statistiškai reikšmingas ($p = 0,026$) skirtumas buvo tarp MDA koncentracijos ir nedidelę širdies ir kraujagyslių ligų riziką atspindinčios CRB koncentracijos (< 1 mg/l) grupės tiriamųjų ir vidutinę širdies ir kraujagyslių ligų riziką atspindinčios CRB

koncentracijos (1 – 3 mg/l) grupės tiriamųjų. Taip pat nustatėme, kad tarp MDA koncentracijos CRB yra labai silpna ($r=0,160$), bet statistiškai reikšminga ($p=0,023$) koreliacija.

MDA IR KMI. Pasaulyje didėja antsvorį ar nutukimą turinčių žmonių. Antsvoris ir nutukimas yra pavojų sveikatai kelianti organizmo būseną, kurios metu yra pernelyg didelis riebalų kiekis arba jų susikaupimas organizme. Antsvoris yra laikomas tuomet, kai kūno masės indeksas yra $\geq 25 \text{ kg/m}^2$, o nutukimas - $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. Yra manoma, kad amžius, KMI ir oksidacinis stresas gali prisidėti prie tam tikrų lėtinių ligų progresavimo, pavyzdžiui, diabeto ar širdies ir kraujagyslių ligų. Nutukusių žmonių organizme galima nustatyti padidėjusius lipidų peroksidacijos žymenų kiekius ir sumažėjusį antioksidantinių fermentų kiekį bei susilpnėjusią antioksidacinę gynybą [48]. Savo darbe nustatėme, kad 100 tiriamųjų (49,5%), turėjo normalų KMI (18,5 - 24,9 kg/m^2). Antsvoris, kai KMI ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) buvo nustatytas 77 (38,1%) asmenims. Nutukimas, kai KMI ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$) buvo nustatytas 24 tiriamiesiems (11,9%). Nustatėme, kad MDA koncentracija statistiškai reikšmingai skyrėsi ($p=0,024$) tarp normalų KMI turinčių tiriamųjų grupės ir nutukimą turinčių tiriamųjų grupės. Nustatėme, kad tarp kūno masės indekso ir malondialdehido koncentracijos yra silpna ($r=0,235$), tačiau statistiškai reikšminga koreliacija ($p=0,001$). Tai leidžia daryti prielaidą, kad didėjant KMI, didėja ir oksidacinis stresas.

MDA ir rūkymas. Rūkymas yra vienas iš pagrindinių širdies ir kraujagyslių rizikos veiksnių. Neigiama rūkymo įtaka ypatingai svarbi vyrams, nes šie rūko daugiau ir intensyviau negu moterys. Tabako dūmuose yra daug toksinių junginių, tame tarpe ir laisvųjų radikalų. Yra nustatyta, kad rūkančių asmenų kraujyje yra padidėjusios lipidų peroksidacijos žymenų, pavyzdžiui, malondialdehido, koncentracijos lyginant su nerūkančiais asmenimis [31, 34, 49]. *L. R. Černiauskienė* su kolegomis savo atliktuose tyrimuose [30, 31] nustatė, kad padidėjusios MDA koncentracijos dažniai ($>360,3 \mu\text{g/l}$) buvo reikšmingai ($p<0,01$) didesni 35 – 64 metų vyrų tarpe, nei tarp niekada nerūkiusių to paties amžiaus vyrų. *J. Lykkesfeldt* su kolegomis savo atliktame tyrime [47] taip pat nustatė, kad rūkančių asmenų MDA koncentracija ($76,38 \pm 24,50 \mu\text{g/l}$) kraujo plazmoje buvo statistiškai reikšmingai didesnė ($p=0,0003$) lyginant su nerūkančių asmenų MDA koncentracija ($59,09 \pm 12,97 \mu\text{g/l}$). Savo atliktuose tyrimuose statistiškai reikšmingo skirtumo tarp MDA koncentracijos ir rūkančių bei nerūkančių pacientų nenustatėme. Galbūt palyginimui reikėtų vienodesnės rūkančių ir nerūkančių pacientų imties, nes mūsų atveju rūkantys pacientai buvo tik 34, o nerūkantys - 164.

MDA ir psichosocialinis stresas. Žinoma, kad socialinio streso veiksniai, pavyzdžiui, socialinės paramos trūkumas, skurdas, vienatvė, depresija, socialinė izoliacija, turi neigiamą poveikį širdies ir kraujagyslių ligoms. Stiprus psichologinį stresą kartu su tradiciniais aterosklerozės rizikos veiksniais – rūkymu, hiperlipidemija, hipertenzija, – skatina laisvųjų deguonies radikalų gamybą ir oksidacinį stresą kraujagyslėse [40]. Savo darbe siekėme įvertinti

MDA koncentracijos ir įvairių psichosocialinių veiksnių tarpusavio ryšį. Nustatėme, kad MDA koncentracija labai silpnai ($r=0,185$), tačiau statistiškai reikšmingai ($p=0,009$) koreliuoja su socialine parama darbe, su vidine darna ($r=0,171$; $p=0,015$) ir su priešišku (= $0,143$; $p=0,042$). Nustatėme, kad statistiškai reikšmingas ($p=0,042$) MDA koncentracijos skirtumas buvo tarp socialinės paramos darbe grupių. Taip pat statistiškai reikšmingas MDA koncentracijos skirtumas ($p=0,029$) buvo tarp vidinės darnos grupių. Įtraukę į savo tyrimą dar ir amžiaus kriterijų, taip pat nustatėme, kad MDA koncentracija socialinės paramos ir vidinės darnos grupėse taip pat statistiškai reikšmingai ($p=0,0001$) skyrėsi ir pagal amžių. Mūsų gauti rezultatai rodo, kad didėjant socialinei paramai darbe ir asmeninei vidinei darnai, didėja ir MDA koncentracija kraujo serume. Galbūt ateityje reikėtų didinti stresą patiriančių pacientų imtį, nes savo darbe nustatėme, kad tiriamųjų socialinės paramos darbe ir vidinės darnos darbe rodikliai yra pakankamai aukšti ir geri.

IŠVADOS

1. Sveikų jaunų ir vidutinio amžiaus vyrų MDA koncentracijos mediana kraujo serume buvo 99,74 $\mu\text{g/l}$ (N=202). Rekomenduojamos MDA koncentracijos reikšmės kraujo serume (38,19 – 151,32 $\mu\text{g/l}$) buvo nustatytos 94,1% tiriamųjų (N=190), o 5,4% tiriamųjų (N=11) - padidėjusi (>151,32 $\mu\text{g/l}$) MDA koncentracija. MDA koncentracija kraujyje buvo susijusi su amžiumi ($r=0,302$; $p=0,0001$).

2. MDA koncentracija kraujyje buvo susijusi su lipidų apykaitos rodikliais – bendroju cholesteroliu ($r=0,454$; $p=0,0001$), triacilgliceroliais ($r=0,305$; $p=0,0001$) ir MTL cholesteroliu ($r=0,372$; $p=0,0001$).

3. MDA koncentracija kraujyje buvo susijusi su uždegimo žymens C – reaktyvaus baltymo koncentracija ($r=0,160$; $p=0,023$) ir su kūno masės indeksu ($r=0,235$; $p=0,001$). MDA koncentracija kraujyje ir rūkymas tarpusavyje susiję nebuvo

4. MDA koncentracija kraujyje buvo susijusi su psichosocialinio streso vertinimo aspektais – socialine parama darbe ($r=0,185$; $p=0,009$), vidine darna ($r=0,171$; $p=0,015$) ir priešišku (r=0,143; p=0,042).

SUMMARY

Introduction. Oxidative stress is a biological process, caused by an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and antioxidants. Increased oxidative stress is involved in the pathogenesis of atherosclerosis, cancer, diabetes, aging and other diseases. Oxidative stress influence in atherosclerosis occur when reactive oxygen species cause lipid peroxidation. Malondialdehyde is traditional biomarker of oxidative stress and lipid peroxidation.

The **aim of the study** was to determine oxidative stress marker malondialdehyde concentration in blood serum and evaluate its relationship with psychosocial stress and indicators associated with atherosclerosis.

Methods. 202 healthy individuals aged 25 – 54 were investigated. Serum concentrations of total cholesterol, triacylglycerols, LDL cholesterol, HDL cholesterol, C-reactive protein (CRP) was measured and calculated body mass index. Serum concentration of MDA was measured by fluorimetric method. Psychosocial stress was evaluated using point scale from different questions.

Results. Serum MDA concentration of healthy young and middle-aged men's was measured 99,74 µg/l. Recommended values of serum MDA concentration (38,19 – 151, 32 µg/l) had 94,1% individuals. MDA concentration was associated with age ($r = 0,302$; $p = 0,0001$) and was significantly ($p=0,0001$) higher in middle-aged men's group compared to young men's age group.

MDA correlated with some lipid parameters – total cholesterol ($r=0,454$; $p=0,0001$), triacylglycerols ($r=0,305$; $p=0,0001$) and LDL cholesterol ($r=0,372$; $p=0,0001$). Serum MDA concentration was related to CRP concentration ($r=0,160$; $p=0,023$) and to body mass index ($r=0,235$; $p=0,001$). MDA also was correlated with some psychosocial stress parts – social support at work ($r=0,185$; $p=0,009$), coherence ($r=0,171$; $p=0,015$) and hostility ($r=0,143$; $p=0,042$).

Conclusion. MDA concentration significantly correlated with age, lipid parameters, CRP, BMI and some parts of psychosocial stress questionnaire.

Keywords. Oxidative stress, lipid peroxidation, atherosclerosis, MDA, malondialdehyde, psychosocial stress.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Rinkūnienė E, Petrulionienė Ž, Zdanevičiūtė I, Dženkevičiūtė V. Mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų tendencijos Lietuvoje ir Europos Sąjungos šalyse. *Medicinos teorija ir praktika*. 2013; 19(2): 130-136.
2. Douglas G, Channon KM. The pathogenesis of atherosclerosis. *Medicine*. 2010; 38(8): 397-402.
3. Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*. 2008; 23: 381-390.
4. Yu H, Rifai N. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: from theory to therapy. *Clin Biochem*. 2000; 33(8): 601-10.
5. Krantz DS, McCeney M. Effects of psychological and social factors on organic disease: a critical assesment of research on coronary heart disease. *Annu Rev Psychol*. 2002; 53: 341-69.
6. van Velzen LS, Wijdeveld M, Black CN, van Tol MJ, van der Wee NJ, Veltman DJ et al. Oxidative stress and brain morphology in individuals with depression, anxiety and healthy controls. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017; 76: 140-144.
7. Yin H, Xu Libin, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem Rev*. 2011; 111(10): 5944-72.
8. Rahal A, Kumur A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S et al. Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*. 2014: 1-19.
9. Seljeskog E, Hervig T, Mansoor MA. A novel HPLC method for the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). A comparision with a commercially available kit. *Clin. Biochem*. 2006; 39(9): 947-954.
10. Rio DD, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005; 15: 316-328.

11. Vitkovski M, Pacevičius J. Empirinis darbe patiriamų stresų įvertinimas. *Ekonomika ir vadyba: aktualijos ir perspektyvos*. 2007; 2(9): 197-205.
12. McEwen BS, Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med* 1993; 153(18): 2093-101.
13. Pikūnas J., Palujanskienė A. Stresas. Atpažinimas ir įveikimas. Kaunas: „Morkūnas ir Ko“; 2005. 190p.
14. Cohen S, Deverts DJ, Miller GE. Psychological stress and disease. *JAMA*. 2007; 298(14): 1685-1687.
15. Djuric Z, Bird CE, Dawson AF, Rauscher GH, Ruffin MT, Stowe RP et al. Biomarkers of psychological stress in health disparities research. *Open Biomark J*. 2008; 1: 7-19.
16. Lagraauw HM, Kuiper J, Bot I. Acute and chronic psychological stress as risk factors for cardiovascular disease: insights gained from epidemiological, clinical and experimental studies. *Brain Behav. Immun* 2015; 50: 18-30.
17. Palta P, Samuel L, Miller ER, Szanton SL. Depression and oxidative stress: results from a meta – analysis of observational studies. *Psychosom Med*. 2014; 76(1): 12-19.
18. Kazakevičius RV. Hipoksija. Oksidacinis stresas. Apoptozė. Vilnius: Vilniaus Universiteto leidykla; 2007. 64p.
19. Singh Z, Karthigesu IP, Singh P, Kaur R. Use of malondialdehyde as a biomarker for assessing oxidative stress in different disease pathologies: a review. *Iran J Public Health*. 2015; 44(5): 714-715.
20. Djordevic VB. Free radicals in cell biology. *Int Rev Cytol*. 2004; 237: 57-89.
21. Ceconi C, Boraso A, Cargnoni A, Ferrari R. Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? *Arch Biochem Biophys*. 2003; 420(2): 217-21.
22. Ahsan A, Ali A, Ali R. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. *Clin Exp Immunol*. 2003; 131: 398-404.

23. Ayala A, Munoz MF, Arguelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hidroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014; 6: 1-31.
24. Mildažienė V. Oksidacinis stresas ir senėjimas. Projektas BPD2004-ESF-2.4.0-01-04/0157, „Naujausių gamtos mokslo žinių sklaidos mokytojams tinklas“. Interneto prieiga: http://gamta.vdu.lt/mokytojai/kursai/Oksidacinis_stresas_ir_senejimas.pdf.
25. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges. *Anal Biochem.* 2017; 524: 13-30.
26. Tsikas D, Rothmann S, Schneider JY, Suchy MT, Trettin A, Modun D *et al.* Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC-MS and GC-MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: MDA as a biomarker of oxidative stress and its relation to 15(S)-iso-prostaglandin F2 α and nitric oxide (\bullet NO). *J. Chromatogr. B. Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2016; 1019: 95-111.
27. M.C. Gutteridge, B. Halliwell, The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems, *Trends Biochem Sci.* 1990; 15(4): 129–135.
28. Khoschorur GA, Winklhofer-Roob BM, Rabl H, Auer Th, Peng Z, Schaur RJ. Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of malondialdehyde, and application of the method to different biological materials. *Chromatographia.* 2000; 52(3): 181-184.
29. Ligor M, Olszowy P, Buszewski B. Application of medical and analytical methods in Lyme borreliosis monitoring. *Anal Bioanal Chem.* 2012; 402(7): 2233-48.
30. Černiauskiene LR, Lukšienė DI, Tamošiūnas A. Rūkymo poveikis lipidų peroksidacijos žymeniui malondialdehidui, priklausomai nuo vitamino E koncentracijos kraujo serume. *Medicinos teorija ir praktika.* 2007; 13(2): 176-180.
31. Černiauskiene LR, Lukšienė DI, Margevičienė L, Tamošiūnas A. Rūkymo ir metabolinio sindromo įtaka lipidų peroksidacijos žymens malondialdehido koncentracijai. *Medicinos teorija ir praktika.* 2007; 13(4): 490-496.

32. Soydinc S, Celik A, Demiryurek S, Davutoglu V, Tarakcioglu M, Aksoy M. The relationship between oxidative stress, nitric oxide, and coronary artery disease. *Eur. J. Genet. Med.* 2007; 4(2): 62-66.
33. Bhale DV, Hivre MD, Mahat RS, Saudagar A, Mishra D, Bujurge A. Study of oxidative stress in patients with hypertension. *IJRTSAT.* 2013; 9(1): 157-158.
34. Singh RB, Mengi SA, Xu YJ, Arneja AS, Dhalla NS. Pathogenesis of atherosclerosis: a multifactorial process. *Exp Clin Cardiol.* 2002; 7(1): 40-53.
35. Kozlovaitė V. Aterosklerozė ir trombocitų disfunkcija. *Biomedicina.* 2002; 2(1); 81-84.
36. Kadar A, Glasz T. Development of atherosclerosis and plaque biology. *Cardiovasc Surg.* 2001; 9(2): 109-21.
37. Kučinskienė ZA. Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 2008. 409p.
38. Kopaei MR, Setorki M, Douidi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int J Prev Med.* 2014; 5(8): 927-946.
39. Interneto prieiga: http://healthyprotocols.com/2_athero.htm.
40. Inoue N. Stress and antherosclerotic cardiovascular disease. *J Atheroscler Thromb.* 2014; 21: 391-401.
41. Coco H, Oliveira AM. Endothelial dysfunction induced by chronic psychological stress: a risk factor for atherosclerosis. *Cardiovasc Pharm Open Acces.* 2015; 4: 168.
42. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of-life style factors. *Clin Chem.* 1997; 43(47): 1209-14.

43. Kristenson M, Kučinskienė Z, Bergdahl B, Calkauskas H, Urmonas V, Gomer KO. Increased psychosocial strain in Lithuanian versus Swedish men: the LiVicordia study. *Psychosom Med.* 1998; 60(3): 277-82.
44. Mastavičiūtė A, Alekna V, Tamulaitienė M. Kūno sandaros tyrimai. *Gerontologija.* 2011; 12(3): 177-186.
45. Strazdienė V, Kasiulevičius V, Mastavičiūtė A, Šapoka V. Metabolinio sindromo ir jo komponentų sąsajos su kai kuriais širdies ir kraujagyslių rizikos veiksniais. *Gerontologija.* 2011; 12(2): 86-96.
46. Turkoglu UM, Ihan E, Oztezcan S, Kuru A, Toker GA, Uysal M. Age-related increases in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects. *Clin Biochem.* 2003; 36(5): 397-400.
47. Zimmermann O, Li K, Zaczekiewicz M, Graf M, Liu Z, Torzewski J. C-reactive protein in human atherogenesis: facts and fiction. *Mediators Inflamm.* 2014; 1-6.
48. Huang CJ, McAllister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-related oxidative stress: the impact of physical activity and diet manipulation. *Sports Med Open.* 2015; 1(1): 32.
49. Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen HE. Plasma malondialdehyde is induced by smoking: a study with balanced antioxidant profiles. *Br J Nutr.* 2004; 92(2): 203-6.