

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

MAGISTRO DARBAS

**KORTIZOLIO KONCENTRACIJOS PLAUKUOSE SĄSAJOS SU TRADICINIAIS
ATEROSKLEROZĖS RIZIKOS VEIKSNIAIS**

Magistrantė EGLĖ MAZGELYTĖ

(parašas)

Darbo vadovas
Doc. dr. Dovilė Karčiauskaitė

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
Doc. dr. Dovilė Karčiauskaitė leidžiama ginti

(parašas)

Darbo įteikimo data
Registracijos Nr.

2018 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPOS.....	4
ĮVADAS	6
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
1.1. Aterosklerozės patogenezė ir pagrindiniai rizikos veiksniai.....	7
1.2. Tradicinių aterosklerozės žymenų tyrimai	8
1.3. Streso apibrėžimas ir atsako į stresą mechanizmai	9
1.4. Streso įtaka širdies ir kraujagyslių ligų išsivystymui.....	11
1.4.1. Streso įtaka uždegiminių procesui	12
1.4.2. Streso įtaka endotelio funkcijos pokyčiams	13
1.5. Psichologiniai testai lėtinio streso lygiui nustatyti.....	14
1.6. Streso hormonas kortizolis. Jo cheminė struktūra, biosintezė ir metabolizmas.....	15
1.7. Kortizolio koncentracijos nustatymas plaukuose ir kitose organizmo terpėse	18
1.8. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymo metodai	19
1.9. Kortizolio koncentracijos kraujo serume/plazmoje nustatymo metodai.....	20
1.10. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos ir tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių.....	20
1.10.1. Kortizolio koncentracijos ryšys su hiperlipidemija, nutukimu ir cukriniu diabetu ...	20
1.10.2 Kortizolio koncentracijos ryšys su hipertenzija	22
1.10.3 Kortizolio koncentracijos ryšys su rūkymu.....	22
2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	23
2.1. Tiriamųjų grupė.....	23
2.2. Tyrimo metodai.....	24
2.2.1. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.....	24
2.2.2. Kortizolio koncentracijos kraujo serume nustatymas imunofermentiniu metodu.....	28
2.2.3. Psichosocialinio streso vertinimo klausimynas lėtinio streso lygiui nustatyti	29
2.3. Statistinė duomenų analizė.....	30
3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	30
3.1. Tiriamieji.....	30
3.2. Kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas jaunų (25–39 metų) ir vidutinio amžiaus (40–55 metų) vyrų grupėse	33
3.3. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų antropometrinių duomenų (svorio, liemens apimties, KMI) ryšys	34
3.4. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų arterinio kraujo spaudimo (sistolinio ir diastolinio, vidutinio arterinio kraujo spaudimo) bei širdies susitraukimų dažnio ryšys.....	39

3.5. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų lipidų apykaitos rodiklių, jų santykių, uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo bei gliukozės koncentracijos ryšys.....	41
3.6. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir rūkymo ryšys	45
3.7. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir fizinio aktyvumo darbe ir laisvalaikio ryšys.....	45
3.8. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir lėtinio psichosocialinio streso.....	46
3.9. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose, seilėse ir kraujo serume.....	48
4. REZULTATŲ APTARIMAS	49
4.1. Kortizolio koncentracija plaukuose ir amžius.....	49
4.2. Kortizolio koncentracija plaukuose ir antropometriniai rodikliai	50
4.3. Kortizolio koncentracija plaukuose ir arterinis kraujo spaudimas bei širdies susitraukimų dažnis.....	52
4.4. Kortizolio koncentracija plaukuose ir lipidų apykaitos rodikliai	53
4.5. Kortizolio koncentracija plaukuose ir CRB	54
4.6. Kortizolio koncentracija plaukuose ir angliavandenių apykaitos rodikliai.....	54
4.7. Kortizolio koncentracija plaukuose ir rūkymas	55
4.8. Kortizolio koncentracija plaukuose ir fizinis aktyvumas.....	56
4.9. Kortizolio koncentracija plaukuose ir psichosocialinis stresas.....	57
4.10. Kortizolio koncentracija plaukuose, seilėse ir kraujo serume.....	58
4.11. Apibendrinimas	58
IŠVADOS	59
SUMMARY	60
NAUDOTI INFORMACIJOS ŠALTINIAI	61

SANTRUMPOS

11 β -HSD – 11 β -hidroksisteroido dehidrogenazė
AKTH – adrenokortikotropinis hormonas
AMPK – 5' adenoizino monofosfato aktyvuojama baltymų kinazė
apoAI – apolipoproteinas AI
apoB – apolipoproteinas B
AR – adrenerginiai receptoriai
B-ch – bendrasis cholesterolis
CD – cukrinis diabetas
CRB – C reaktyvusis baltymas
DCh-MS – dujų chromatografija-masių spektrometrija
DKS – diastolinis kraujo spaudimas
DTL-ch – DTL cholesterolis
ESCh-FLU – efektyvioji skysčių chromatografija su fluorescenciniu detektoriumi
ESI – elektropurkštuvinė jonizacija (angl. *Electrospray ionization*)
FMD – tėkmės sąlygota dilatacija (angl. *Flow-mediated dilatation*)
GR – gliukokortikoidų receptoriai
HbA_{1c} – glikozilintas hemoglobinas
ICAM-1 – tarpląstelinė adhezijos molekulė - 1
IFA – imunofermentinis tyrimas
IL – interleukinas (pvz. IL-1 β – interleukinas-1 β)
INF- γ – interferonas - γ
KMI – kūno masės indeksas
KŠL – koronarinė širdies liga
Lp(a) – lipoproteinas a
MAPK – mitogenų aktyvuojama baltymų kinazė
MI – miokardo infarktas
MR – mineralkortikoidų receptoriai
MTL – mažo tankio lipoproteinai
MTL-ch – MTL cholesterolis
NADPH – nikotinamido adenino dinukleotido fosfatas (redukuotas)
NF- κ B – branduolio faktorius κ B
oksMTL – oksiduoti MTL
PHA – pogumburio-hipofizės-antinksčių ašis

PI – pasikliautinis intervalas

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

SCh-MS – skysčių chromatografija-masių spektrometrija

SKS – sistolinis kraujo spaudimas

SR – santykinė rizika

ŠSD – širdies susitraukimų dažnis

TAG – triacilgliceroliai

TICS – Trier lėtinio streso testas (angl. *Trier Inventory for Chronic Stress*)

TNF- α – navikų nekrozės faktorius α

VAKS – vidutinis arterinis kraujo spaudimas

ĮVADAS

Lietuvoje mirtingumas nuo širdies ir kraujagyslių ligų sudaro net 54 % visų mirties priežasčių [1]. Pagrindinė širdies ir kraujagyslių ligų, tokių kaip koronarinė širdies liga ar insultas, priežastis yra aterosklerozė – lėtinė uždegiminė arterijų sienelės liga. Žinoma, jog pagrindiniai rizikos veiksniai, lemiantys aterosklerozės ir jos komplikacijų išsivystymą yra vyriška lytis, vyresnis amžius, lipidų apykaitos sutrikimai, cukrinis diabetas (CD), hipertenzija, rūkymas bei nejudrumas [3, 5, 9]. Greta šių aterosklerozės rizikos veiksnių vis didesnis dėmesys skiriamas lėtinio psichosocialinio streso reikšmei aterosklerozės patogenezėje [7, 11, 16].

Nustatyta, jog fiziologinį atsaką į stresą apima simpatinės nervų sistemos-antinksčių bei pogumburio-hipofizės-antinksčių (PHA) ašies aktyvacija. Lėtinio streso sukeltas ilgalaikis PHA ašies aktyvumo padidėjimas pasireiškia intensyvia antinksčių steroidinio hormono kortizolio sekrecija [14–16]. Todėl siekiant objektyviau įvertinti patiriamo streso lygį naudojamosi ne tik tiriamųjų pildomais streso vertinimo klausimynais, bet ir matuojama kortizolio koncentracija įvairiose organizmo terpėse. Kortizolio koncentracijos nustatymas seilėse, kraujo serume bei paros šlapime atspindi momentinį arba trumpalaikį PHA ašies aktyvumą, nes rezultatams reikšmingą įtaką daro antinksčių žievės steroidiniams hormonams būdinga pulsinė sekrecija bei cirkadinis bioritmas [16, 22, 23, 40]. Dėl minėtų priežasčių ilgalaikiam PHA ašies aktyvumui stebėti kaip tiriamoji medžiaga naudojami plaukai, pasižymintys savybe kaupti egzogeninės ir endogeninės kilmės lipofilines medžiagas [40]. Kortizolio tyrimai plaukuose galėtų būti naudingi ne tik vertinant gydymo gliukokortikoidais efektyvumą ar sekant kai kurių endokrininių ligų eigą, bet ir analizuojant patirto lėtinio streso poveikį sveikatos būklei bei lėtinių ligų išsivystymo rizikai.

Darbo tikslas:

Nustatyti lėtinio streso žymens kortizolio koncentraciją tiriamųjų plaukuose ir įvertinti jos sąsajas su aterosklerozės rizikos veiksniais.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti kortizolio koncentraciją sveikų, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergančių jaunu (25–39 m.) ir vidutinio amžiaus (40–55 m.) vyrų plaukuose.
2. Įvertinti kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų antropometrinių rodiklių, arterinio kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio sąsajas.
3. Įvertinti kortizolio koncentracijos plaukuose ir lipidų, angliavandenių apykaitos rodiklių bei uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo ryšį.
4. Įvertinti kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų fizinio aktyvumo bei rūkymo įpročių sąsajas.

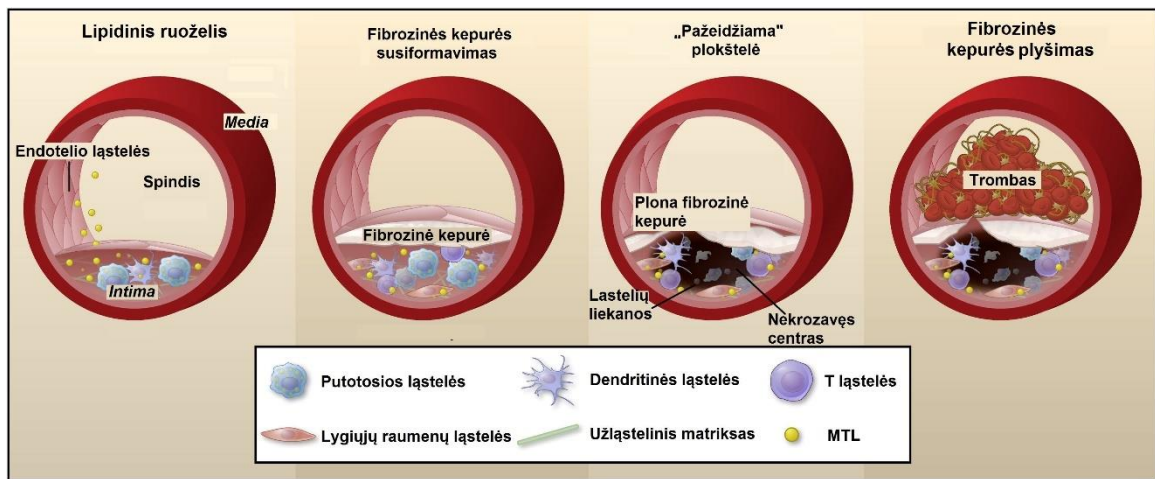
5. Įvertinti kortizolio koncentracijos plaukuose ir subjektyviai suvokiamo psichosocialinio streso sąsajas bei išanalizuoti ryšius tarp kortizolio koncentracijos, nustatytos tiriamųjų plaukuose, seilėse ir kraujo serume.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Aterosklerozės patogenezė ir pagrindiniai rizikos veiksniai

Aterosklerozė – viena svarbiausių metabolinių ligų, kurios vystymasis siejamas su kraujo plazmos lipoproteinais. Nustatyta, kad svarbiausią vietą aterogenezės procese užima mažo tankio lipoproteinai (MTL), sudaryti iš cholesterolio bei jo esterių, triacilglicerolių, fosfolipidų bei apolipoproteino B (apoB) [2]. MTL dalyvauja pirmajame aterogenezės etape – lipidinio ruoželio (angl. *fatty streak*) formavimėsi (1 pav.). Šio proceso metu MTL patenka į subendotelį ir įsitvirtina jame dėl sąveikos su užląstelinio matrikso proteoglikanais. MTL modifikavimas (oksidacija, lipolizė, glikozilinimas) aktyvina endotelio ląsteles, kurios išskiria adhezijos molekules ir sąlygoja neutrofilų, monocitų ir T limfocitų migraciją į intimą. Intimoje susikaupę monocitai transformuojami į makrofagus, kurie fagocituoja oksiduotus MTL (oksMTL) [2–5], bei dendritines ląsteles, gebančias aktyvuoti T limfocitus ir formuoti putotąsias ląsteles [6]. Makrofagų ir oksMTL sąveiką lemia makrofagų paviršiuje išsidėstę receptoriai „rijikai“ (angl. *scavenger receptors*) ir oksMTL paviršiniame sluoksnyje esantys fosfolipidai [5]. Minėtas fagocitozės procesas lemia makrofagų virtimą putotosiomis ląstelėmis, kurių sankaupos formuoja lipidinį ruoželį. Nustatyta, kad intimoje vyksta putotųjų ląstelių apoptozė, lemianti lipidų sankaupą, kurios sudaro besiformuojančios aterosklerozinės plokštelės lipidinę šerdį, susidarymą [2, 4, 5].

Antrasis aterogenezės etapas – fibrozinės kepurės formavimasis (1 pav.). Šiame procese dalyvauja lygiųjų raumenų bei endotelio ląstelės, kurios išskiria citokinus ir augimo veiksnius, lemiančius lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją bei migraciją į intimą, kurioje vyksta užląstelinio užpildo baltymų – kolageno, elastino, glikoproteinų – sintezė [5]. Svarbu paminėti, kad makrofagų išskiriamos matrikso metaloproteinazės ardo užląstelinį matriksą, o T limfocitų išskiriamas navikų nekrozės faktorius α (TNF- α) slopina kolageno sintezę, todėl susiformuoja ploną fibrozinę kepurę turinti „pažeidžiama“ plokštelė. Fibrozinės kepurės plyšimas yra susijęs su trombocitų adhezija ir agregacija, o šių procesų pasekmė – trombų susidarymas (1 pav.) [3, 5, 6].



1 pav. Aterosklerozės vystymasis ir progresavimas [6].

Manoma, kad aterosklerozės vystymąsi skatina tam tikri žalingi įpročiai, gyvenimo būdas ar gretutinės ligos. Dauguma literatūroje minimų rizikos veiksnių, tokių kaip hipercholesterolemija, padidėjusi triacilglicerolių (TAG) ir MTL cholesterolio (MTL-ch) bei sumažėjusi didelio tankio lipoproteinų cholesterolio (DTL-ch) koncentracija, hipertenzija, rūkymas, cukrinis diabetas (CD), nutukimas, mažas fizinis aktyvumas, gali būti kontroliuojami reikšmingai sumažinant aterosklerozės vystymosi riziką [5–7]. Kiti rizikos veiksniai yra nekintantys ir nekontroliuojami. Šiai rizikos veiksnių grupei priskiriami: vyriška lytis, vyresnis amžius (rizika didėja vyrams vyresniems nei 45-eri metai ir moterims vyresnėms nei 55-eri metai), šeiminiškas polinkis (rizika reikšmingai didėja, jei paciento tėvui ar broliui diagnozuota širdies ir kraujagyslių sistemos liga jaunesniame nei 55-erių metų amžiuje arba paciento motinai ar seseriai liga nustatyta jaunesniame nei 65-erių metų amžiuje) bei genetiniai pokyčiai [5]. Literatūroje aprašomi ir tokie rizikos veiksniai kaip stresas, alkoholio vartojimas, padidėjusi homocisteino koncentracija ir lėtinis uždegimas, sukeltas infekcinių agentų (*herpes virusų* ar *Chlamydia pneumoniae*) [3, 5].

1.2. Tradicinių aterosklerozės žymenų tyrimai

Tradicionių aterosklerozės žymenų tyrimai leidžia ne tik diagnozuoti, bet ir vertinti, stebėti bei prognozuoti ligos eigą. Literatūroje išskiriamos dvi pagrindinės aterosklerozės biožymenų grupės: lipidų apykaitos ir uždegimo žymenys. Lipidų apykaitos žymenims priskiriami bendrojo cholesterolio (B-ch), MTL-ch, DTL-ch, TAG, apolipoproteino A-I (ApoAI), apolipoproteino B (ApoB) bei jų santykio (ApoAI/ApoB) ir lipoproteino a (Lp(a)) tyrimai [2, 5].

Didelė B-ch bei MTL-ch koncentracija kraujyje yra laikoma pagrindiniu aterosklerozės bei jos komplikacijų rizikos veiksniu. Nepaisant to, nemaža dalis klinikinių tyrimų parodė, kad pacientų, kuriems diagnozuota koronarinė širdies liga (KŠL) ar ūminis miokardo infarktas (MI), serume B-ch ir MTL-ch koncentracijos yra rekomenduojamose normos

ribose, todėl svarbu tirti ir kitus aterosklerozės biožymenis [8]. Maža DTL-ch koncentracija, kuri lemia sumažėjusią cholesterolio pernašą iš periferinių audinių į kepenis, taip pat vertinama kaip KŠL rizikos veiksnys. TAG tyrimai reikšmingi siekiant diagnozuoti hiperlipidemijas, kurių priežastys gali būti tiek genetiniai sutrikimai, tiek gretutinės ligos. Šiuo metu nepriklausomais rizikos veiksniais yra laikomi ir ApoAI bei ApoB, kurie atitinkamai yra pagrindiniai DTL ir MTL baltymai – padidėjęs ApoB/ApoAI santykis sąlygoja didesnę aterosklerozės riziką. Nustatyta, kad aterosklerozės patogenezėi labai svarbus Lp(a), kurio aterogeniškumas pasireiškia palaikant krešulio stabilumą, slopinant fibrinolizę bei stimuliuojant lygiųjų raumenų ląstelių augimą [2].

Kaip uždegimo žymuo paprastai naudojamas C reaktyvusis baltymas (CRB). CRB yra ūminės uždegimo fazės baltymas, sintetinamas kepenyse. Nors šio pentraksinų šeimos baltymo tyrimas dažniausiai taikomas audinių pažeidimui ir bakterinėms infekcijoms diagnozuoti, nustatyta, kad tai yra vienas svarbiausių žymenų širdies ir kraujagyslių ligų prognozės vertinimui [5, 9, 10]. Literatūros duomenis CRB ne tik atspindi kraujagyslėje vykstančius uždegiminius procesus, bet ir tiesiogiai veikia endotelį slopindamas endotelio azoto oksido sintazę ir prostaciklinų sintezę endotelio ląstelėse. Azoto oksidas ir prostaciklinas pasižymi vazodilataciniu poveikiu ir slopina krešėjimą, todėl jų stoka pasireiškia hipertenzija ir suaktyvėjusiu krešėjimo procesu bei didesne aterosklerozinės plokštelės plyšimo rizika [3, 9].

1.3. Streso apibrėžimas ir atsako į stresą mechanizmai

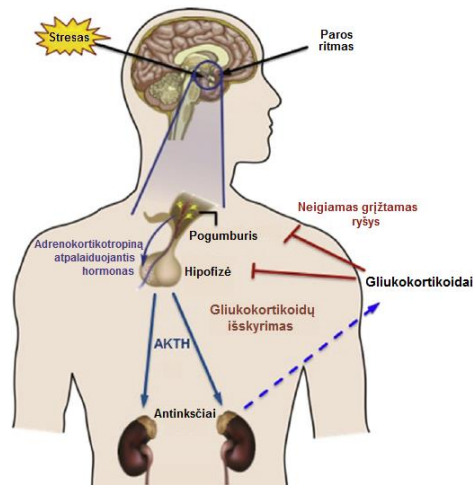
Stresas – organizmo reakcija į realius ar menamus, vidinius ir išorinius dirgiklius, vadinamus stresoriais. H.Selye atlikti tyrimai parodė, jog nepriklausomai nuo stresoriaus tipo organizme vyksta panašūs procesai, vadinami bendruoju adaptaciniu streso sindromu. Pastarajam būdingos trys stadijos: nerimo stadija, apibūdinama „kovoti ar pabėgti“ (angl. *fight or flight*) principu, pasipriešinimo stadija ir išsekimo stadija, kuri ir lemia įvairių lėtinių ligų vystymąsi [11]. Nuolatinis stresas pasireiškia fiziniais (somatiniiais) ir psichologiniais (emociniais) požymiais. Dažniausi fiziniai požymiai yra miego ir valgymo sutrikimai, silpnumas, galvos svaigimas, dažnas galvos skausmas, kaklo ir nugaros skausmai, dažnas peršalimas ir polinkis infekcijoms. Emocinėms streso išraiškoms priskiriami nuolatinis priešiško arba pikto jausmas, padidėjęs nusivylimas ir susierzinimas, nervingumas, koncentracijos trūkumas, nerimas ir depresija [12].

Adaptacinė reakcija į stresą apibūdinama elgesio ir fiziologiniais pokyčiais. Pirmajai grupei priklauso jaudrumo, budrumo, dėmesingumo padidėjimas, o lėtinį stresą patiriantiems asmenims dažnai pasireiškia piktnaudžiavimas alkoholiu, dažnas rūkymas, sumažėjęs fizinis aktyvumas, paskirto gydymo režimo nesilaikymas (pavyzdžiui, nereguliarus vaistų vartojimas).

Fiziologinį atsaką į stresą apima simpatinės nervų sistemos-antinksčių bei pogumburio-hipofizės-antinksčių (PHA) ašių aktyvacija. Streso metu nerviniai impulsai iš smegenų žievės pasiekia pogumburio prieskilvelinį branduolį (lot. *Nucleus paraventricularis*) ir skatina arginino vazopresino ir adrenokortikotropiną atpalaiduojančio hormono sekreciją. Pastarasis jungiasi prie priekinėje hipofizės dalyje esančių receptorių ir didina adrenokortikotropinio hormono (AKTH) sintezę. Veikiant AKTH skatinamas kortizolio išsiskyrimas iš antinksčių žievės [13–16] (2 pav.). Simpatinės nervų sistemos-antinksčių aktyvinimas lemia katecholaminų – adrenalino ir noradrenalino – išsiskyrimą iš antinksčių šerdies [13, 16].

Kortizolio išskyrimo procesą reguliuoja neigiamas grįžtamas ryšys, veikiantis į visus PHA ašies komponentus (2 pav.), chronobiologiniai mechanizmai bei patiriamas fizinis ir psichosocialinis stresas [14, 16, 17]. Chronobiologiniams mechanizmom priskiriami ultradinis, cirkadinis ir sezoninis bioritmai. Ultradinis ritmas pasireiškia pastoviu dažniu (kas 1–2 val.) vykstančia adrenokortikotropiną atpalaiduojančio hormono sekrecija pogumburyje. Dėl cirkadinio ritmo poveikio kortizolio koncentracija didėja nuo 4 val. ryto, didžiausias kortizolio kiekis nustatomas 30–40 min. po pabudimo, vėliau seka minėto hormono koncentracijos mažėjimas, o apie vidurnaktį pasiekiamą minimali kortizolio koncentracija. Pastebėta, kad žiemą kortizolio koncentracija yra didesnė nei kitais metų laikais, tačiau tokio reiškinio priežastys nėra aiškios [16].

Sutrikusi PHA ašies reguliacija lemia alostatinio krūvio kaupimąsi [18], kurio pasekmės – receptorių desensibilizacija ir audinių pažeidimai. Žmogaus organizme per parą išskiriama apie 10–30 mg kortizolio [15], tačiau patiriant įtampą hormono sekrecija gali padidėti net 10 kartų [19]. Žinoma, kad nenormali kortizolio koncentracija yra susijusi su nerimo ir nuotaikos sutrikimais, širdies ir kraujagyslių sistemos ligomis, nutukimu, Kušingo sindromo ir Adisono ligos išsivystymu [15, 17, 20, 21]. Kušingo sindromo atveju hipofizėje sintetinamas per didelis AKTH kiekis, todėl stebima padidėjusi kortizolio koncentracija [19, 20, 22]. Adisono liga pasireiškia dėl antinksčių pažeidimo ar disfunkcijos stipriai sumažėjusia kortizolio sekrecija [16, 20].



2 pav. PHA ašis ir jos aktyvumo reguliacija žmogaus organizme (AKTH – adrenokortikotropinis hormonas) [14].

1.4. Streso įtaka širdies ir kraujagyslių ligų išsivystymui

Skirtingų klinikinių ir epidemiologinių tyrimų duomenimis širdies ir kraujagyslių ligų patogenezėje reikšmingas ne tik oksidacinis ar hemodinaminis, bet ir psichosocialinis stresas [11]. Nustatyta, kad ūminis emocinis stresas gali sukelti stenokardiją, miokardo infarktą ir staigią mirtį, o lėtinis stresas (stresas darbo ar namų aplinkoje, nepakankama socialinė parama) yra svarbus KŠL patogenezėje [23]. Literatūros duomenimis lėtinis stresas, patirtas įvairiais amžiaus tarpsniais, yra susijęs su 40–60 % padidėjusia širdies ir kraujagyslių sistemos ligų rizika [7].

A. Steptoe ir M. Kivimäki [7] 2013 m. atlikta metaanalizė parodė, kad vaikystėje patirtas lėtinis stresas (fizinė ar seksualinė prievarta, tėvų liga ar mirtis, prasta socialinė ir ekonominė padėtis) yra susijęs su beveik du kartus didesne rizika sirgti KŠL. Atsižvelgę į lyties ir amžiaus įtaką, autoriai patvirtino ir reikšmingą ryšį tarp darbe patiriamos įtampos ir 1,34 kartus padidėjusios KŠL išsivystymo rizikos (95 % PI [1,18; 1,51]). Nustatyta, kad ilgos darbo valandos (daugiau nei 55 valandos per savaitę) taip pat lemia 40 % padidėjusią KŠL riziką, tačiau statistiškai reikšmingo ryšio tarp darbe patiriamo streso ir insulto nenustatyta [24]. C. Power su kolegomis [25] vykdyti D. Britanijoje gyvenančių moterų tyrimai parodė, jog socialinė ir ekonominė padėtis vaikystėje yra susijusi su padidėjusiu mirštamumu nuo KŠL nepriklausomai nuo socioekonominės padėties brandžiame amžiuje ir tokių veiksnių kaip rūkymas ir viršsvoris ar nutukimas (SR = 1,13 (95 % PI [1,01; 1,27])).

Tarptautiniame atvejo-kontrolės tyrime INTERHEART vertintas ryšys tarp ūminio miokardo infarkto ir psichosocialinio streso, kuris apibrėžtas kaip dirglumo, ilgalaikio nerimo jausmas arba namuose ir/ar darbe patiriamos įtampos sukelti miego sutrikimai. Ryšys tarp psichosocialinio streso ir MI išsivystymo vertintas tiriant 11 119 pacientų, kuriems diagnozuotas

ūminis miokardo infarktas ir 13 648 kontrolinės grupės asmenis, kuriems MI nebuvo nustatytas. Rezultatai parodė, jog nepriklausomai nuo amžiaus, lyties ir rūkymo, asmenys, namuose ar darbe patiriantys ilgalaikį stresą, turi 2 kartus didesnę MI išsivystymo riziką [11, 22, 23]. Framingham tyrimo bei Japonijoje vykdyto epidemiologinio perspektyvinio tyrimo NIPPON DATA80 metu tirtas ryšys tarp KŠL išsivystymo ir cholesterolio koncentracijos kraujyje. NIPPON DATA80 tyrimų rezultatai parodė, kad individams, kurių bendrojo cholesterolio koncentracija yra 6,21–6,7 mmol/l, rizika mirti nuo KŠL yra 1,8 karto didesnė nei tiems pacientams, kurių cholesterolio koncentracija kraujyje yra 4,14–4,63 mmol/l. Framingham tyrimo metu gauti panašūs rezultatai, todėl galima teigti, kad ryšys tarp širdies ir kraujagyslių sistemos ligų ir psichosocialinio streso yra palyginamas ar net stipresnis nei šių ligų sąsaja su hipercholesterolemija [11, 23, 26].

H. Iso su kolegomis [26] 2002 metais atliko kohortinį tyrimą, kurio metu analizuotas ryšys tarp subjektyviai suvokiamo psichologinio streso ir mirštamumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų, tokių kaip insultas ar KŠL. Tiriamųjų grupė (30 180 vyrų ir 43 224 moterys, kurių amžius – 40–79 metai) sudaryta naudojantis 1988–1990 metais vykdyto JACC (Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk) tyrimo duomenimis. Pagal pacientų užpildytą klausimyną buvo įvertintas subjektyviai suvokiamo streso lygis ir nustatyta, kad moterims, kurių patiriamo streso lygis aukštas, santykinė rizika patirti insultą yra 2,10 karto didesnė lyginant su moterimis, kurių patiriamo streso lygis žemas (SR = 2,10 (95 % PI [1,45; 3,02])). Panašus ryšys moterų grupėje pastebėtas tarp patiriamo streso lygio ir KŠL (SR = 2,20 (95 % PI [1,19; 4,08])) bei MI (SR = 2,66 (95 % PI [1,32; 5,34])). Vyrų grupėje nenustatyta statistiškai reikšmingų ryšių tarp patiriamo streso lygio ir minėtų širdies ir kraujagyslių ligų, išskyrus didesnę MI riziką vidutinį streso lygį patiriantiems vyrams lyginant su tiriamaisiais, kurių patiriamo streso lygis žemas (SR = 1,87 (95 % PI [1,12; 3,13])). Minėti rezultatai gauti atsižvelgiant į tokius veiksnius kaip kūno masės indeksas (KMI), rūkymas, alkoholio vartojimas, fizinis aktyvumas bei miego trukmė [11, 27].

1.4.1. Streso įtaka uždegiminiam procesui

Aterosklerozė – lėtinė arterijų sienelės liga, kurios patogenezėje vyrauja lėtinis uždegimas [3, 10]. Uždegiminiai procesai yra susiję su padidėjusiu uždegiminių citokinų, dalyvaujančių aterosklerozinės plokštelės formavime, kiekiu. Žinoma, kad lėtinis stresas aktyvuoja PHA ašį ir simpatinę nervų sistemą, kurios atitinkamai skatina gliukokortikoidų ir katecholaminų išsiskyrimą. Gliukokortikoidai veikia per gliukokortikoidų receptorių (GR), o katecholaminai – per α ir β adrenerginius receptorių (AR), esančius imuninių ląstelių (monocitų ir neutrofilų) paviršiuje (AR) arba citoplazmoje (GR). Tokia sąveika lemia pakitusią uždegiminių ir uždegimą slopinančių citokinų sekreciją.

Atsižvelgiant į skirtingų tipų citokinų išsiskyrimo pokyčius lėtinis stresas gali būti suskirstytas į tris etapus. Pirmajame etape dėl streso poveikio mažėja uždegiminių (IL-1 β , IL-6, TNF- α , INF- γ) ir didėja uždegimą slopinančių (IL-4, IL-10, IL-13) citokinų išsiskyrimas. Kortizolio ir gliukokortikoidų receptoriaus kompleksas patenka į branduolį ir minėtų uždegiminių citokinų raišką slopina transkripcijos lygmenyje veikdamas per neaktyvų branduolio faktorių κ B (NF- κ B). Antrajame etape dėl PHA ašies „išsekimo“ atsakas į stresą susilpnėja, išsivysto atsparumas gliukokortikoidams. Pastarojo reiškinio susiformavimas aiškinamas keliais molekuliniais mechanizmais: GR koduojančio geno raiškos slopinimu, kuri sukelia padidėjusi epinefrino ir norepinefrino koncentracija ar gliukokortikoidų indukuotas GR prisijungimas prie neigiamo gliukokortikoidų atsako elemento bei GR fosforilinimas veikiant p38 MAPK (angl. *p38 mitogen activated protein kinase*). Atlikta nemažai klinikinių tyrimų, kurių metu tirti pacientai, sergantys uždegiminėmis ligomis ir ilgą laiką vartojantys sintetinius gliukokortikoidų medikamentus, tokius kaip deksametazonas, hidrokortizonas, prednizolonas. Nustatyta, kad tiriamiesiems išsivystė atsparumo gliukokortikoidams sindromas, kai pradinės terapinės dozės tampa neefektyvios [13, 28]. Nepašalinus stresoriaus, prasideda paskutinis etapas, kurio metu atsparumas gliukokortikoidams ir aktyvus NF- κ B lemia toliau didėjančią uždegiminių citokinų koncentraciją, kuri pasiekusi tam tikrą lygį sukelia uždegimą, svarbų aterosklerozės patogenezėje [13].

1.4.2. Streso įtaka endotelio funkcijos pokyčiams

Endotelio reikšmė aterosklerozės patogenezėje yra neabejotina, nes pirminė kraujagyslės pažeidimas įvyksta endotelyje, kurio ląstelės palaiko struktūrinę ir funkcinę kraujagyslių vientisumą [3, 22]. Endotelio disfunkcija apibrėžiama kaip sutrikusi pusiausvyra tarp vazodilatacinių ir krešėjimą slopinančių (azoto oksido, prostaciklino) bei vazokonstrikcinių ir krešėjimą skatinančių veiksnių (endotelino, angiotenzino II) sintezės endotelio ląstelėse [3]. Nustatyta, kad viena iš endotelio disfunkcijos prežasčių gali būti lėtinio psichologinio streso metu atsiradusi nuolatinė simpatinės nervų sistemos aktyvacija. Pastarosios aktyvinimas pasireiškia sustiprėjusia trombocitų agregacija bei renino-angiotenzino sistemos aktyvacija. Angiotenzinas II yra NADPH oksidazės aktyviklis, todėl aktyvi NADPH oksidazė katalizuoja aktyviųjų deguonies formų (angl. *reactive oxygen species, ROS*) susidarymą, kurio pasekmė – oksidacinis stresas ir endotelio pažeidimas [11, 23].

MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) tyrimo metu tirtas ryšys tarp lėtinio streso ir endotelio disfunkcijos žymenų. Tiriamųjų grupę sudarė įvairių etninių grupių vidutinio ir vyresnio amžiaus (45–84 metai) žmonės. Endotelio funkcijai įvertinti naudotas tėkmės sąlygotos endotelio dilatacijos metodas (angl. *flow-mediated dilatation, FMD*) bei du serologiniai

žymenys: tarpląstelinė adhezijos molekulė - 1 (ICAM-1) ir E-selektinas. FMD metodo esmė yra dėl reaktyvios hiperemijos sustiprėjusios kraujo tėkmės sukeltas šlyties streso poveikis kraujagyslės sienelei. Dėl tokio poveikio yra aktyvuojama NO sintazė, skatinamas NO išsiskyrimas, pasireiškiantis vazodilatacija. ICAM-1 ir E-selektinas yra adhezijos molekulės, ekspresuojamos endotelio ląstelių paviršiuje dėl endotelio pažeidimo sąlygoto uždegiminio atsako. MESA tyrimo rezultatai parodė, kad lėtinis stresas yra susijęs su endotelio disfunkcija: nepriklausomai nuo tyrimo dalyvių sociodemografinių charakteristikų (amžiaus, lyties, etninės grupės, išsilavinimo, pajamų) tiriamiesiems, patiriantiems aukštą streso lygį nustatyta mažesnė vidutinė FMD rodiklio vertė (atitinkamai 0,169 mm ir 0,178 mm, $p = 0,04$) bei didesnė ICAM-1 raiška (vidurkiai atitinkamai 272 ng/ml ir 261,6 ng/ml, $p = 0,003$) lyginant su tiriamaisiais, kurių patiriamo streso lygis žemesnis [22, 27]. Tuo tarpu lyginant E-selektino koncentracijų vertes tarp dviejų skirtingą lėtinio streso lygį patiriančių tiriamųjų grupių, statistiškai reikšmingų vidurkių skirtumų nepastebėta (56,7 ng/ml aukštą streso lygį patiriančių asmenų grupėje ir 57,1 ng/ml žemą streso lygį patiriantiems asmenims, $p = 0,83$). Tyrimo metu tirta ir darbe patiriamos įtampos reikšmė endotelio disfunkcijai. Tyrimo rezultatai parodė, jog statistiškai reikšingos asociacijos nėra, todėl patvirtinta, kad aterosklerozės vystymuisi svarbus ne pavienių, o daugelio įvairių stresorių poveikis [22, 27].

1.5. Psichologiniai testai lėtinio streso lygiui nustatyti

Sąsają tarp patiriamo streso lygio ir kortizolio koncentracijos plaukuose analizei svarbūs subjektyvūs lėtinio streso lygį įvertinantys psichologiniai testai (pacientų individualiai pildomi klausimynai). Nustatyta, kad individo subjektyvus stresoriaus grėsmės įvertinimas 20–30 % prisideda prie atsako į stresorių vykdymo [18, 20]. Žinoma, kad kovos su stresoriumi būdas, apspręstas temperamento ir asmenybės bruožų bei individo įgūdžių, daro įtaką PHA ašies aktyvumui [20].

Literatūros duomenimis vienas iš dažniausiai naudojamų testų yra subjektyviai suvokiamo streso skalė PSS (angl. *perceived stress scale*), įvertinanti bendrą destruktivaus streso lygį ir individo gebėjimą įveikti stresą [20, 28]. Naudojamos trys šio testo versijos, kurios skiriasi klausimų respondentui skaičiumi: pateikiami 4 (PSS-4), 10 (PSS-10) ar 14 (PSS-14) klausimų. E.H.Lee [30] 2012 metais atliko 19-os straipsnių sisteminę apžvalgą ir įvertino PSS psichometrines savybes. Nustatyta, kad geriausiomis psichometrinėmis savybėmis (vidinis suderinamumas, pakartotinių testavimų patvirtintas patikimumas, vertintojų sutariamumas, kriterinis validumas) pasižymi PSS-10 versija [31], o mažiausiai efektyvi PSS-4 versija. S.M.Staufenbiel su kolegomis [21] atliktoje sisteminėje literatūros apžvalgoje nagrinėtas ryšys tarp PSS įverčio ir kortizolio koncentracijos plaukuose. Iš 19-os apžvalgoje analizuotų

publikacijų 11-oje tyrimų naudotas PSS klausimynas: 2-uose tyrimuose nustatyta tiesioginė, 2-uose – atvirkštinė priklausomybė tarp PSS taškų ir kortizolio koncentracijos plaukuose, o 7-iuose tyrimuose statistiškai reikšmingas ryšys tarp šių kintamųjų nenustatytas. Pastarieji rezultatai aiškinami tuo, kad respondentų pildytas klausimynas sudarytas taip, kad įvertintas tik per pastarąjį mėnesį patirto streso lygis, o tirtų plaukų ilgis pasirinktas toks, kad įtakos rezultatams galėjo turėti paciento psichologinės ir emocinės būklės pokyčiai vieno, dviejų, trijų ar net devynių mėnesių laikotarpiu [16, 20].

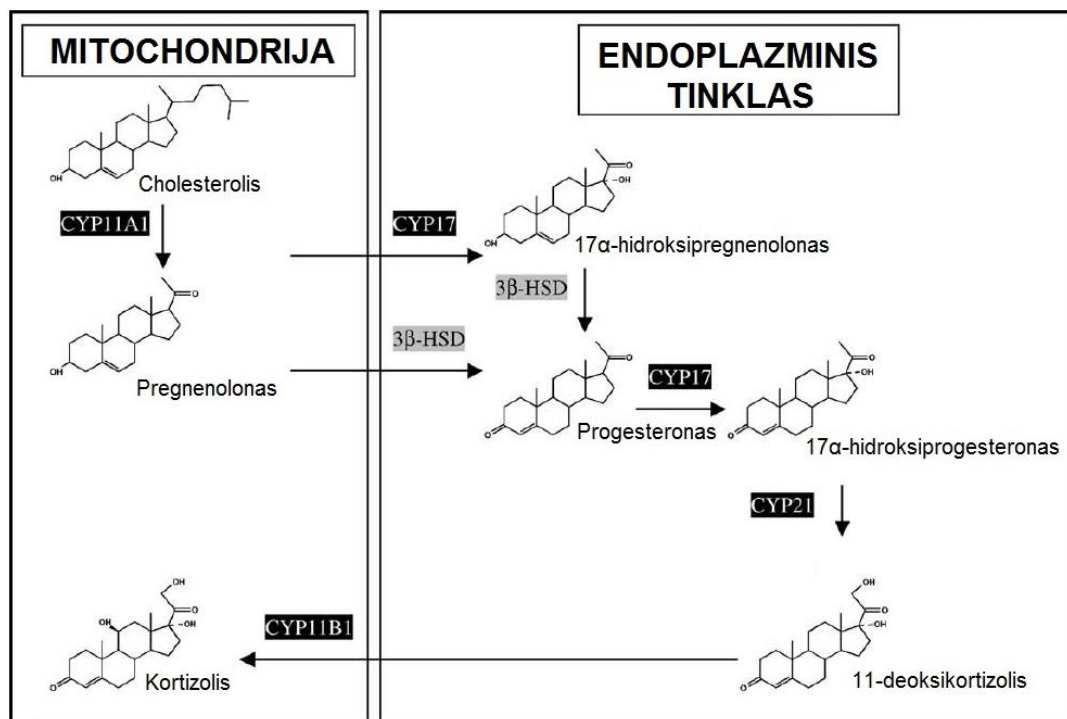
Kitas lėtinio psychosocialinio streso lygį įvertinantis klausimynas – Trier lėtinio streso testas TICS (angl. *Trier Inventory for Chronic Stress*). Šis klausimynas sudarytas iš 9 dalių: darbo perkova, socialinė perkrova, įtampa darbe, nepasitenkinimas darbu, netinkami darbo reikalavimai, socialinis pripažinimas, socialinė įtampa, socialinė izoliacija ir lėtinis nerimas. TICS metu respondantai kiekvienoje klausimyno dalyje pateiktus teiginius vertina pagal 5 balų Likerto skalę (0 – niekada, 1 – retai, 2 – kartais, 3 – dažnai, 4 – labai dažnai) [32]. S.M.Staufenbiel su kolegomis [20] publikuotoje apžvalgoje išanalizuoti tyrimai, kuriuose lėtinio streso įvertinimui naudotas TICS, tačiau statistiškai reikšminga tiesioginė priklausomybė nustatyta tik tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir socialinę perkrovą įvertinančios klausimyno dalies įverčių balais.

1.6. Streso hormonas kortizolis. Jo cheminė struktūra, biosintezė ir metabolizmas.

Kortizolis – antinksčių žievės pluoštinės zonos ląstelėse sintetinamas steroidinis hormonas, kurio, kaip ir kitų steroidų, pagrindas yra ciklopentano perhidrofenantreno žiedas. Pastarąjį sudaro keturi konjuguoti žiedai, todėl molekulė yra plokščia ir nelanksti. Kortizolio struktūroje yra 21 anglies atomas, C-10 ir C-13 atomai yra metilinti, o prie C-17 prijungta ilgesnė šoninė grupė [33].

Kortizolio, kaip ir kitų steroidinių hormonų, sintezės pirmtakas yra cholesterolis. Žmogaus organizme į antinksčius cholesterolis patenka iš kraujo plazmoje cirkuliuojančių MTL ir tik nedidelė jo dalis sintetinama antinksčiuose iš acetyl-KoA. MTL į ląstelę patenka receptorinės endocitozės būdu per MTL receptorius [34]. Antinksčiuose esančio cholesterolio didžiąją dalį sudaro esterintas, t.y. su riebalų rūgštimis susijungęs cholesterolis. Tokius cholesterolio esterius endosomose hidrolizuoja lizosomų rūgštinė lipazė. Steroidinių hormonų sintezei naudojamo laisvojo cholesterolio kiekį didina AKTH ir liuteinizuojantis hormonas, kurie didina viduląstelinio ciklinio adenosino 3',5'-monofosfato kiekį antinksčiuose, o pastarasis slopina acil-KoA-cholesterolio aciltransferazės aktyvumą ir aktyvina β -hidroksi- β -metilglutaril-KoA reduktazę. Laisvasis cholesterolis endosomoje susijungia su NPC (angl. *Niemann Pick type C*) baltymais ir yra pernešamas iš endosomos į ląstelės citoplazmą. Iš citoplazmos cholesterolis,

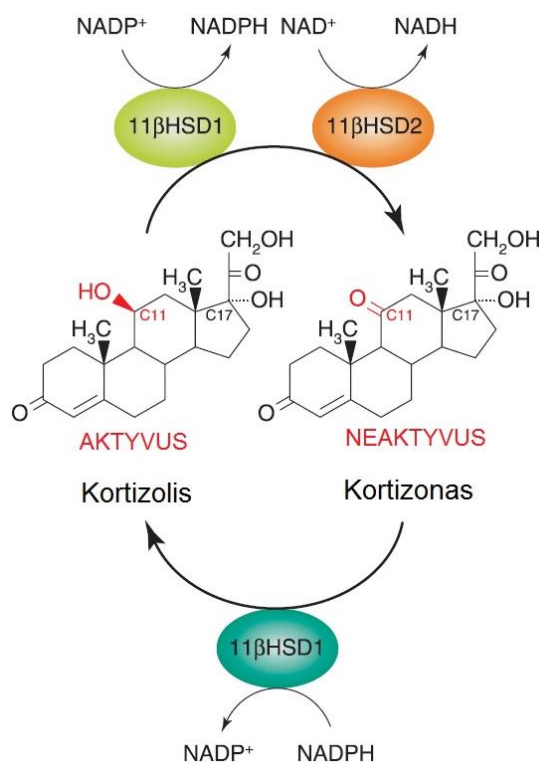
kartu su START (angl. *StAR-related lipid transfer*) domeną turinčiais ar kitais transportiniais baltymais, pasiekia išorinę mitochondrijų membraną, o joje susijungęs su StAR (angl. *steroidogenic acute regulatory protein*) baltymu patenka į vidinę mitochondrijų membraną, kurioje veikiant 20,22-desmolazei (CYP11A1) iš cholesterolio sintetinamas pregnenolonas [34]. Mitochondrijose susintetintas pregnenolonas pernešamas į endoplazminį tinklą, kur katalizuojant 17 α -hidroksilazei (CYP17) susidaro 17 α -hidroksipregnenolonas. Veikiant 3 β -hidroksisteroido dehidrogenazei (3 β -HSD) pregnenolonas ir 17 α -hidroksipregnenolonas verčiami atitinkamai progesteronu ir 17 α -hidroksiprogesteronu. Progesteronas hidroksilinimo reakcijos metu katalizuojant 17 α -hidroksilazei paverčiamas 17 α -hidroksiprogesteronu ir dalyvauja tolimesnėje kortizolio biosintezėje. 17 α -hidroksiprogesterono šoninė grandinė hidroksilinama katalizuojant fermentui 21 β -hidroksilazei (CYP21), o susintetintas 11-deoksikortizolis hidroksilinamas C-11 padėtyje veikiant 11 β -hidroksilazei (CYP11B1) ir susidaro kortizolis [34–36] (3 pav.).



3 pav. Kortizolio biosintezė iš cholesterolio antinksčių žievėje [36].

Kraujo plazmoje kortizolis cirkuliuoja laisvos ir su kraujo baltymais sujungtos formos. Didžiausia kortizolio dalis (80–90 %) yra prisijungusi prie specifinio α_1 globulino – transkortino ir gerokai mažiau (6–15 %) kortizolio prijungia albuminas [19, 37]. Laisvas kortizolis yra biologiškai aktyvus ir sudaro 4–5 % bendro kortizolio kiekio [22].

Nustatyta, kad pagrindinis fermentas, dalyvaujantis kortizolio metabolizme, yra 11 β -hidroksisteroido dehidrogenazė (11 β -HSD). Žinoma, jog šis fermentas turi dvi izoformas: 11 β -HSD1 ir 11 β -HSD2. Abiejų fermento izoformų aktyviajame centre nustatytos tirozino, serino ir lizino aminorūgščių liekanos, tačiau 11 β -HSD1 veikia kaip dimeras ar tetrameras, o 11 β -HSD2 yra aktyvus monomerinėje formoje. 11 β -HSD1 yra nuo NADPH priklausoma reduktazė, kuri redukuoja neaktyvius 11-ketosteroidus (kortizoną) ir susidaro aktyvūs gliukokortikoidai (kortizolis). Esant didelei NADP⁺ koncentracijai 11 β -HSD1 gali veikti ir kaip oksidazė, tačiau Michaelio konstanta kortizoliui yra labai nedidelė ($K_m = 27 \mu\text{mol/l}$). 11 β -HSD2 kaip kofaktorių naudoja NAD⁺ ir katalizuoja kortizolio virsmą kortizonu ($K_m = 60 \text{ nmol/l}$) (4 pav.). Manoma, kad padidėjęs 11 β -HSD1 aktyvumas yra susijęs su metabolinio sindromo išsivystymu [38].



4 pav. Kortizolio metabolizmas: fermentinės oksidacijos-redukcijos reakcijos [38].

Gliukokortikoidų pašalinimui iš organizmo su šlapimu (70 %), išmatomis (20 %) ar per odą (10 %) yra būtinos kepenyse vykstančios fermentinės oksidacijos-redukcijos reakcijos ir šių steroidinių hormonų konjugacija su gliukurono ar sieros rūgštimis [37]. Kepenų 5 α /5 β -reduktazės redukuoja dvigubuosius C=C ryšius, o 3 α /3 β -hidroksisteroidų dehidrogenazės katalizuoja karbonilo grupės (C=O) redukciją ir di- ar tetrahydrosteroidų susiformavimą [19, 38].

1.7. Kortizolio koncentracijos nustatymas plaukuose ir kitose organizmo terpėse

Streso hormono kortizolio koncentracija gali būti nustatoma įvairiose organizmo terpėse. Ūminiam ir trumpalaikiam stresui įvertinti kortizolio koncentracija nustatoma serume, seilėse bei paros šlapime [22, 23]. Nustatyta, kad kortizolio koncentracijos matavimas trijose minėtose matricose pasižymi ryškia variacija tiek lyginant rezultatus, gautus skirtingų individų mėginiuose, tiek analizuojant to paties paciento tyrimų duomenis. Tokia variacija aiškinama ultradinio ir cirkadinio bioritmų poveikiu, geriamųjų kontraceptikų vartojimu, skirtingu reakcijos į trumpalaikius streso dirgiklius intensyvumu [22]. Literatūros duomenimis kortizolio koncentraciją seilėse ir kraujo plazmoje sieja stipri tiesinė priklausomybė ($r = 0,9$), tačiau seilėse nustatoma vidutiniškai 50 % mažesnė kortizolio koncentracija lyginant su kortizolio koncentracija kraujo plazmoje [28]. Svarbu paminėti tai, kad kraujo paėmimo, priešingai nei seilių surinkimo, procedūra yra invazyvi, todėl vien šio proceso metu sukeliama įtampa gali lemti padidėjusią kortizolio koncentraciją [15, 20, 28, 39].

Žinoma, kad kortizolio koncentracijos nustatymas serume, seilėse ir šlapime neatspindi ilgalaikio streso įtakos ir negali būti naudojamas kaip žymuo lėtiniam stresui įvertinti [40]. Tyrimai minėtose matricose suteikia informacijos tik apie kortizolio išsiskyrimą per pastarąsias minutes (tiriant kortizolio koncentraciją kraujo plazmoje ar seilėse) ar valandas (tiriant kortizolio koncentraciją šlapime), todėl siekiant įvertinti lėtinio streso lygį reikalingos itin dažnos ėminių paėmimo procedūros [15, 20], kurias sudėtinga standartizuoti [20]. Lėtinio streso įvertinimui ir kortizolio koncentracijos nustatymui kaip matrica naudojami plaukai [40], kurių paėmimo procedūra yra mažiau invazyvi, reikalingas nedidelis mėginio kiekis, o paimtas ėminys yra pakankamai stabilus, jo saugojimas nereikalauja ypatingų sąlygų [15, 41].

Literatūros duomenimis didžioji dalis kortizolio ir kitų hormonų iš kraujotakos į plauką patenka pasyvios difuzijos būdu per plauko folikule esančius kapiliarus. Manoma, jog per mėnesį plaukai paauga apie 1 cm, todėl naudojant minėtą tiriamąją medžiagą, atsiranda galimybė atlikti retrospektyvinius tyrimus [20, 23, 39, 42–44]. Pavyzdžiui, tiriant skirtingus plaukų segmentus, galima vertinti gydymo hidrokortizonu efektyvumą, stebėti ligos (pavyzdžiui, sergant Kušingo sindromu) eigą bei palyginti kortizolio koncentraciją plaukuose prieš ir po stresą sukėlusio įvykio [22]. Būtent todėl plaukų pluoštelio ilgis pasirenkamas pagal tai, koku laikotarpiu patirto streso lygį norima įvertinti [41]. S. Iglesias ir bendraautoriai [41] matuodami kortizolio koncentraciją seilėse ir plaukuose vertino streso valdymo programos efektyvumą. Nustatyta, kad kortizolio koncentracijos seilėse skirtumai prieš pradėdant programą ir jai pasibaigus nebuvo statistiškai reikšmingi, o šios analizės koncentracija plaukuose reikšmingai sumažėjo ($p = 0,026$) įvykdžius 10 savaičių trukmės programą.

1.8. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymo metodai

Kortizolio koncentracijos nustatymo tyrimams naudojami plaukai kerpami nuo viršugalvio užpakalinės dalies kuo arčiau skalpo [22, 29, 41, 45]. Paprastai analizei (taikant SCh-MS metoda) naudojama ne mažiau kaip 10 mg mėginio, o tiriamų plaukų pluoštelio ilgis siekia apie 2–3 cm [29, 41, 45]. Plaukų ėminiai turi būti saugomi sausoje ir tamsioje vietoje kambario temperatūroje. Paprastai plaukų paruošimo analizei procedūra pradedama plaukų plovimo etapu naudojant chloroformą, metileno chloridą, metanolį ar izopropanolį. Atlikus plaukų plovimo procedūrą plaukai susmulkinami (ėminys homogenizuojamas) siekiant pagerinti ekstrakcijos efektyvumą. Kortizolio ekstrakcija iš plaukų vykdoma inkubuojant Sorenson'o buferiniame tirpale, druskos rūgštyje ar metanolyje [29]. Paprastai ekstrakcijai pasirenkamas hidrofilinėmis savybėmis pasižymintis metanolis, inkubacija vykdoma 12–18 val. kambario temperatūroje [29, 41, 45]. Prieš tiriant kortizolio koncentraciją SCh-MS metodu, vykdomas papildomas gryninimo etapas atliekant skysčių-skysčių arba kietafazę ekstrakciją [29].

Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymui dažniausiai naudojami radioimuniniai, chemiliuminescenciniai, imunofermentiniai (IFA), efektyviosios skysčių chromatografijos su fluorescenciniu detektoriumi (ESCh-FLU), dujų chromatografijos-masių spektrometrijos (DCh-MS) ir skysčių chromatografijos-masių spektrometrijos (SCh-MS) metodai [29, 45].

IFA metodai yra santykinai jautrūs, greitai ir nesudėtingai atliekami, tačiau nepakankamai specifiški. Nedidelis specifiskumas aiškinamas kryžminėmis reakcijomis, vykstančiomis su kitomis plauko matricoje esančiomis medžiagomis (steroidais ir kitais lipidais) [23, 29, 45, 46]. Imunofermentiniai metodai nėra tinkami labai mažoms kortizolio koncentracijoms nustatyti, todėl pagrindinis jų trūkumas – ribotas dinaminis matavimo intervalas [29].

ESCh-FLU metodas yra specifiskesnis nei IFA, tačiau kortizolio koncentracijos nustatymui ESCh-FLU metodu reikalingas žymiai didesnis ėminio (plaukų) kiekis bei sudėtingos ir ilgai trunkančios ėminio paruošimo analizei bei analizės derivatizacijos procedūros. Panašiais privalumais ir trūkumais pasižymintis DCh-MS metodas, dėl sąlyginai ilgo analizės laiko, yra netinkamas tiriant didelį kiekį skirtingų mėginių [29, 45].

Literatūros duomenimis geriausias kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymo metodas yra SCh-MS. Šis metodas pasižymi dideliu jautrumu ir specifiskumu, nesudėtinga ir greita mėginio paruošimo analizei procedūra bei galimybe analizuoti didelį kiekį mėginių per pakankamai trumpą laiką. Judriomis fazėmis dažniausiai pasirenkamas polinių tirpiklių, tokių kaip metanolis, acetonitrilas, vanduo, mišinys, o kaip sorbentas naudojamas oktadecilu (C18) modifikuotas silikagelis. Taikant SCh-MS naudojami du jonizacijos atmosferos slėgyje būdai: elektropurkštuvinė jonizacija (ESI) ir atmosferos slėgio cheminė jonizacija. Nustatyta, kad

steroidinių hormonų tyrimams geresnis jonizacijos efektyvumas pasiekiamas naudojant ESI [29].

1.9. Kortizolio koncentracijos kraujo serume/plazmoje nustatymo metodai

Rutininiams kortizolio koncentracijos nustatymo kraujo serume ar plazmoje tyrimams paprastai yra naudojami imunofermentiniai metodai. Taikant pastaruosius metodus susiduriama su antikūnų kryžminio reaktyvumo problema: antikūnai reaguoja su kitais egzogeninės ar endogeninės kilmės steroidais (kortizonu, kortikosteronu, 11-deoksikortizoliu, 11-deoksikortikosteronu, progesteronu, prednizolonu, 17 α -hidroksiprogesteronu, deksametazonu). Svarbu paminėti ir tai, kad imunofermentiniais metodais nustatoma bendro (laisvo ir sujungto su baltymais) kortizolio koncentracija, todėl rezultatas priklauso nuo kortizolį sujungiančių baltymų koncentracijos kraujo plazmoje. Baltymų koncentracijos pokyčiai būdingi sergant nefroziniu sindromu, nėštumo metu bei vartojant geriamuosius kontraceptikus, kurių sudėtyje yra estrogenų. Šiuo metu auksinio standarto metodu kortizolio koncentracijos kraujo plazmoje/serume nustatymui laikomas skysčių chromatografijos-tandeminės masių spektrometrijos metodas (SCh-MS/MS) [47].

1.10. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos ir tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių

Pagrindinė kortizolio funkcija žmogaus organizme yra medžiagų apykaitos reguliavimas. Kortizolio, kaip ir kitų gliukokortikoidų, biologinis poveikis pasireiškia atsparumo insulinui išsivystymu ir gliukoneogenezės aktyvinimu kepenyse, todėl ilgą laiką padidėjusi kortizolio koncentracija veikia diabetogeniškai. Svarbus ir kortizolio poveikis į baltymų ir riebalų apykaitą: hormonas skatina baltymų katabolizmą ir slopina jų sintezę bei didina riebalų rūgščių kiekį kraujyje [48]. Šiuo metu atliekama nemažai tyrimų, kurių metu nagrinėjamas ryšys tarp kortizolio koncentracijos įvairiose organizmo terpėse ir tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių, tokių kaip hiperlipidemija, nutukimas, cukrinis diabetas, hipertenzija, rūkymas.

1.10.1. Kortizolio koncentracijos ryšys su hiperlipidemija, nutukimu ir cukriniu diabetu

Literatūros duomenimis padidėjusi kortizolio koncentracija (pvz. sergant Kušingo sindromu) yra susijusi su padidėjusiu labai mažo tankio ir mažo tankio, bet nepakitusiu didelio tankio lipoproteinų kiekiu kraujyje. Tokių ligonių kraujo serume nustatoma padidėjusi triacilglicerolių ir bendrojo cholesterolio koncentracija [48]. Kortizolio poveikis lipidų metabolizmui apima tiek lipolizės, tiek lipogenezės procesus: lipolizė, vykstanti dėl padidėjusių hormonams jautrios lipazės ir triacilglicerolių lipazės aktyvumą, vyrauja apatinės kūno dalies poodiniame riebaliniame audinyje, o lipogenezė (pre-adipocitų diferenciacija į adipocitus) –

visceraliniame riebaliniame audinyje ir viršutinės kūno dalies poodiniame riebaliniame audinyje. Dėl šių priežasčių padidėjusi kortizolio koncentracija kraujo plazmoje kliniškai pasireiškia centrinio tipo nutukimu [49–51]. Taip pat manoma, jog ilgą laiką padidėjęs kortizolio kiekis organizme lemia reikšmingai suintensyvėjusį lipogenezės procesą [51].

Lipolizės procesas poodiniame riebaliniame audinyje lemia laisvųjų riebalų rūgščių koncentracijos padidėjimą portinėje kraujotakoje bei didesnę TAG kiekį kepenyse, todėl vystosi kepenų steatozė [49]. Lipidų susikaupimas kepenų ir raumenų ląstelėse aktyvina serino kinazės (baltymų kinazę C; JNK, angl. *c-Jun N-terminal kinase*; IKK- β , angl. *inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta*), kurios fosforilina insulino receptorių serino aminorūgščių liekanas ir sutrikdo insulino signalinį kelią. Minėti molekuliniai mechanizmai galimai lemia rezistentiškumo insulinui išsivystymą. Jautrumo insulinui pokyčiai veikiant gliukokortikoidams priklauso nuo audinio tipo: poodiniame riebaliniame audinyje jautrumas insulinui didėja, o raumeniniame ir kituose audiniuose išsivysto atsparumas insulinui [49, 51]. Svarbus ir tiesioginis gliukokortikoidų poveikis angliavandenių apykaitai skeleto raumenų ląstelėse. Gliukokortikoidai sutrikdo gliukozės patekimą į skeleto raumenų ląsteles slopindami insulino stimuliuojamą gliukozės nešiklio GLUT 4 pernašą į ląstelių plazminę membraną [51].

Naudojantis pelių modeliais parodyta, kad gliukokortikoidų sukeliama hiperglikemija ir kepenų steatozė išsivysto dėl fermentų raiškos ir aktyvumo pokyčių kepenyse: aktyvinama gliukoneogenezės (fosfoenolpiruvato karboksikinazė, gliukozės 6-fosfatazė) bei lipogenezės (acetyl-KoA karboksilazė ir riebalų rūgščių sintazė) fermentų raiška ir slopinama acil-KoA dehidrogenazės, dalyvaujančios riebalų rūgščių β oksidacijoje, raiška ir aktyvumas [49]. Tiriant pacientų, sergančių Kušingo sindromu, visceralinio riebalinio audinio adipocitus, nustatytas 70 % mažesnis 5' adenozinio monofosfato aktyvuojamos baltymų kinazės (AMPK) aktyvumas lyginant su kontrolinės grupės pacientais. Žinoma, kad AMPK aktyvina katabolinius (glikolizė, riebalų rūgščių oksidacija) ir slopina anabolinius (riebalų rūgščių, TAG, cholesterolio sintezė) procesus. Tyrimų duomenimis AMPK aktyvumo sumažėjimas yra proporcingas hiperkortizolizmo lygiui [49, 51].

Literatūros duomenimis kortizolio apykaitoje dalyvaujančio fermento 11 β -HSD1 svarba aterosklerozės ir jos rizikos veiksnių išsivystymui yra neabejotina ir įrodyta tiek pelių modeliuose, tiek žmogaus organizme. Dėl šių priežasčių atliekama nemažai tyrimų, kuriuose vertinamas 11 β -HSD1 inhibitorių bei GR antagonistų poveikis [50, 52]. Tiriant 2 tipo CD sergančius pacientus, kurie 28 dienas vartojo selektyvius 11 β -HSD1 inhibitorius, nustatyta, kad vaistai reikšmingai sumažino bendrojo ir MTL cholesterolio koncentracijas tiriamųjų kraujo serume bei padidino audinių jautrumą insulinui [49].

1.10.2 Kortizolio koncentracijos ryšys su hipertenzija

Hipertenzija – vienas iš ilgalaikio hiperkortizolizmo požymių, būdingas 80 % Kušingo sindromu sergančių pacientų [53–55]. Manoma, jog yra keletas mechanizmų, lemiančių gliukokortikoidų poveikio sukeltos hipertenzijos išsivystymą. Vienas iš dažniausiai literatūroje pateikiamų patofiziologinių hipertenzijos mechanizmų – kortizolio mineralokortikoidinis poveikis. Žinoma, jog gliukokortikoidai geba jungtis tiek prie gliukokortikoidų, tiek prie mineralokortikoidų receptorių (MR), o kortizolio koncentracija kraujo plazmoje 100–1000 kartų didesnė nei aldosterono [53, 55]. Fiziologinėmis sąlygomis kortizolio sukeltą MR aktyvaciją reguliuoja 11 β -HSD2, katalizuojanti kortizolio vartimą kortizonu, kuris negali aktyvuoti MR. Dėl šios priežastis intensyvi 11 β -HSD2 raiška būdinga mineralokortikoidų organuose taikiniuose – inkstų žievinėje dalyje, gaubtinėje žarnoje, seilių ir prakaito liaukose. Esant ilgalaikiam hiperkortizolizmui nepakankamas kiekis kortizolio paverčiamas neaktyviu kortizonu, todėl kortizolis jungiasi prie MR ir imituoja aldosterono veikimą. Pastarasis pasireiškia padidėjusia Na⁺ jonų reabsorbcija ir K⁺ bei H⁺ sekrecija inkstų kanalėliuose, pasyvia vandens reabsorbcija ir padidėjusiu kraujo plazmos tūriu [53–55].

Svarbu paminėti ir kitus gliukokortikoidų sukeltos hipertenzijos išsivystymo mechanizmus: renino-angiotenzino sistemos aktyvacija, širdies ir kraujagyslių sistemos jautrumo vazokonstriktorių (pvz. endotelino) poveikiui padidėjimas [53, 55], didesnis β adrenerginių receptorių jautrumas katecholaminams bei vazodilataciją skatinančių medžiagų (azoto oksido, prostaciklino, prostaglandino E2, kalikreino) sintezės slopinimas [53].

1.10.3 Kortizolio koncentracijos ryšys su rūkymu

Literatūros duomenimis rūkymas yra susijęs su PHA ašies aktyvacija, o pagrindinė tokį poveikį sukianti medžiaga yra tabako gaminiuose esantis nikotinas [56, 57]. Šis alkaloidas jungiasi prie pogumburio, melsvojoje dėmėje (lot. *locus coeruleus*) bei kitose CNS dalyse esančių N cholinerginių receptorių ir skatina adrenokortikotropiną atpalaiduojančio hormono išsiskyrimą. Šis hormonas skatina padidėjusią AKTH sekreciją adenohipofizėje ir didesnę kortizolio išsiskyrimą antinksčiuose [57, 58]. Manoma, jog nikotinas gali ir netiesiogiai stimuliuoti pogumburio prieskilvelinį branduolį: aktyvacija vyksta per pailgųjų smegenų branduoliuose esančią noradrenerginę sistemą, kurios skaidulos pasiekia pogumburio prieskilvelinį branduolį ir taip aktyvuoja PHA ašį [59].

J.O. Tweed ir bendraautorių [60] atliktoje apžvalgoje aprašomas nuo nikotino dozės priklausomas PHA ašies aktyvumo padidėjimas, t.y. didėjant nikotino dozei, didėja ir AKTH bei kortizolio sekrecija hipofizėje ir antinksčiuose. Daugelio tyrimų duomenimis reikšmingas

kortizolio koncentracijos kraujo plazmoje padidėjimas pastebimas surūkius mažiausiai dvi didesnį nikotino kiekį turinčias cigaretes [58, 59, 61]. Naudojantis žiurkių modeliais nustatyta, kad didelė (500 mg/kg kūno svorio) nikotino dozė sukelia reikšmingą kortikosterono (pagrindinis žiurkių gliukokortikoidas) koncentracijos padidėjimą per pirmąsias 15 min, o maksimali koncentracija pasiekama po 20 min nuo nikotino injekcijos [59].

Taigi, skirtingose šalyse atliktų tyrimų, kuriuose analizuoti ryšiai tarp kortizolio koncentracijos ir aterosklerozės rizikos veiksnių, rezultatai yra priešaringi. Todėl papildomi tyrimai, nagrinėjantys sąsajas tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir pagrindinių aterosklerozės rizikos veiksnių sveikų, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergančių tiriamųjų grupėje, suteiktų papildomos informacijos apie lėtinio streso reikšmę aterosklerozės patogenezėje.

2. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

2.1. Tiriamųjų grupė

Tiriamųjų grupė sudaryta pagal Lietuvos mokslo tarybos finansuojamo projekto „Lėtinio streso nulemti aterosklerozės proceso ypatumai: naujų biožymenų paieška ir tyrimas“ atrankos kriterijus. Tiriamųjų imtis – sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys jauni (25–40 m.) ir vidutinio amžiaus (41–55 m.) vyrai. Pirmojo tyrimo dalyvių vizito Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Šeimos medicinos centre metu tiriamieji buvo supažindinami su tyrimu, o sutikę dalyvauti tyrime pasirašė „Informuoto asmens sutikimo formą“. Tiriamiesiems asmenims buvo išmatuoti antropometriniai rodikliai (ūgis, svoris, liemens apimtis), arterinis kraujo spaudimas bei širdies susitraukimų dažnis. Taip pat tiriamiesiems duota psichosocialinio streso vertinimo anketa, kurią pacientai turėjo užpildyti namuose. Kortizolio koncentracijos plaukuose tyrimui buvo nukerpamas kuokšelis galvos plaukų. Antrojo vizito metu tiriamiesiems buvo paimami seilių bei veninio kraujo ėminiai. Lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio (B-ch), triacilglicerolių (TAG), MTL cholesterolio (MTL-ch), DTL cholesterolio (DTL-ch)), uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo (CRB) koncentracijos kraujo serume bei gliukozės koncentracijos kraujo plazmoje tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centre. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymo tyrimas atliktas mokslinėje Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros laboratorijoje.

2.2. Tyrimo metodai

B-ch, DTL-ch, TAG koncentracijų kraujo serume ir gliukozės koncentracijos kraujo plazmoje nustatymui naudoti fermentiniai metodai. MTL-ch koncentracijai nustatyti taikyti tiesioginis ir netiesioginis metodai: netiesiogiai MTL-ch koncentracija apskaičiuota taikant Fridevaldo formulę ($\text{MTL-ch (mmol/l)} = \text{B-ch} - (\text{DTL-ch} + \text{TAG}/2,22)$), o tiesioginiam MTL-ch koncentracijos nustatymui, kai $\text{TAG} > 4,5 \text{ mmol/l}$, naudotas fermentinis metodas. CRB koncentracija nustatyta imunoturbidimetriniu metodu. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymui pasirinktas efektyviosios skysčių chromatografijos (ESCh) metodas, o kortizolio koncentracija kraujo serume nustatyta imunofermentinės analizės (IFA) būdu.

2.2.1. Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

Kortizolio koncentracijos plaukuose nustatymas atliktas pagal pritaikytas Jean-Sébastien Raul su kolegomis 2004 metais [62] ir Elio F. De Palo su bendraautoriais 2009 metais [63] straipsniuose publikuotas metodikas. Mėginio paruošimo etape atliktos plovimo bei kietafazės ekstrakcijos (KFE) procedūros, o kortizolio atskyrimui ir nustatymui taikytas efektyviosios skysčių chromatografijos metodas su ultravioletinio bei matomo (UV/Vis) spektro absorbcijos detektoriumi.

2.2.1.1. Reagentai ir medžiagos

- Izopropanolis, $\geq 99,9 \%$ grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Kortizolis, $\geq 98 \%$ grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- 6- α -metilprednizolonas (vidinis standartas), $\geq 98 \%$ grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Acetonas, gradientinės ESCh grynumo (Chromasolv[®], Vokietija);
- Metanolis, gradientinės ESCh grynumo (Chromasolv[®], Vokietija);
- Heksanas, gradientinės ESCh grynumo (Chromasolv[®], Vokietija);
- Acetonitrilas, gradientinės ESCh grynumo (Chromasolv[®], Vokietija);
- Dietileteris, 99,5 % DCh grynumo (Chromasolv[®], Vokietija);
- Dejonizuotas vanduo, paruoštas vandens gryninimo įranga PURELAB[®] Flex-3 (Elga[®], Jungtinė Karalystė);
- Dinatrio vandenilio fosfatas (Na_2HPO_4), $\geq 99,0 \%$ grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Kalio divandenilio fosfatas (KH_2PO_4), $\geq 99,0 \%$ grynumo (Sigma-Aldrich, Vokietija).

2.2.1.2. Darbinių tirpalų gamyba

1. Sorenson'o buferinio tirpalo (0,133 M, pH = 7,6) paruošimas: 1,889 g Na₂HPO₄ ištirpinama 100 ml dejonizuoto vandens (tirpalas A), o 0,908 g KH₂PO₄ ištirpinama 50 ml dejonizuoto vandens (tirpalas B). Ruošiant 100 ml Sorenson'o buferinio tirpalo sumaišoma 86,8 ml Na₂HPO₄ tirpalo (A) ir 13,2 ml KH₂PO₄ tirpalo (B).
2. Standartinių kortizolio tirpalų paruošimas: pirminis 5 mg/ml koncentracijos kortizolio standartas buvo paruoštas iš svėrinio tirpinant 90 % acetonitrile (aq). Mažesnių koncentracijų tirpalai buvo ruošiami skiedžiant pirminį standartą acetoneitrilo-vandens mišinyje (1:1, v/v). Standartiniai tirpalai buvo laikomi 4 °C temperatūroje.

2.2.1.3. Įranga ir priemonės mėginio paruošimui (plovimui ir kietafazei ekstrakcijai)

- Analizinės svarstyklės SBC 31 (Scaltec, JAV);
- Vakuuminė filtravimo įranga (Schott Duran, Restek, Vokietija);
- Stiklo pluošto filtrai (diametras: 50 mm, Whatman, Vokietija);
- Sterilūs 2 ml tūrio mikromėgintuvėliai (Eppendorf, Vokietija);
- Mėginių termostatas BioSan TS-100 (BioSan, Latvija);
- Kietafazės ekstrakcijos kolonėlės Discovery[®] DSC-18, tūris – 1 mL, sorbento kiekis – 100 mg (Sigma-Aldrich Co., Vokietija);
- Vakuuminis frakcijų kolektorius VacMaster (Biotage, Švedija);
- Azoto srauto sistema Thermolyne DryBath (Cole Parmer, JAV).

2.2.1.4. Mėginio paruošimas chromatografiniai analizei: plovimo ir kietafazės ekstrakcijos procedūros

1. Plaukai patrupinami iki 3 cm ilgio (matuojama pradedant nuo arčiausiai skalpo buvusios ėminio dalies), likusi dalis plaukų ėminio tolimesniuose etapuose nenaudojama;
2. Plaukai susmulkinami žirkėmis į nedidelius (1–2 mm) pluoštelius;
3. Analizinėmis svarstyklėmis atsveriami 20–50 mg susmulkintų plaukų;
4. Susmulkinti plaukai suberiami į paruoštą vakuuminę filtravimo sistemą ir mėginys 2 kartus plaunamas 3 ml izopranelio;
5. Plaukai papildomai nusausinami azoto sraute ir perkeliama į sterilius mikromėgintuvėlius. Į tokį mėginį įnešama 2 ml Sorenson'o buferinio tirpalo ir 10 µl 1 µg/ml vidinio standarto (6-α-metilprednizolono). Taip paruoštas mėginys inkubuojamas termostate 16 val. 40°C temperatūroje;

6. Į vakuuminį frakcijų kolektorių įstatoma kietafazės ekstrakcijos kolonėlė, frakcijos renkamos į centrifuginius mėgintuvėlius;
7. Pirmiausia, kolonėlė aktyvuojama/praplaunama 3 ml metanolio, po to – 1,5 ml dejonizuoto vandens. Į taip paruoštą kolonėlę perkeliamas mėginys;
8. Analitės desorbuojamos keliais skirtingais tirpikliais ar jų mišiniais šia seka:
 - a) 0,5 ml dejonizuoto vandens;
 - b) 0,5 ml acetono-vandens mišinio (1:4, v/v);
 - c) 0,25 ml heksano;
 - d) 1,5 ml dietileterio (tiriamoji frakcija);
9. Paskutiniosios frakcijos eliuatas sukonzentruojamas azoto sraute iki sausos liekanos;
10. Sausa mėginio liekana tirpinama 100 µl acetonitrilo-vandens mišinyje (1:1, v/v); mėginys perkeliamas į chromatografinį buteliuką ir analizuojamas.

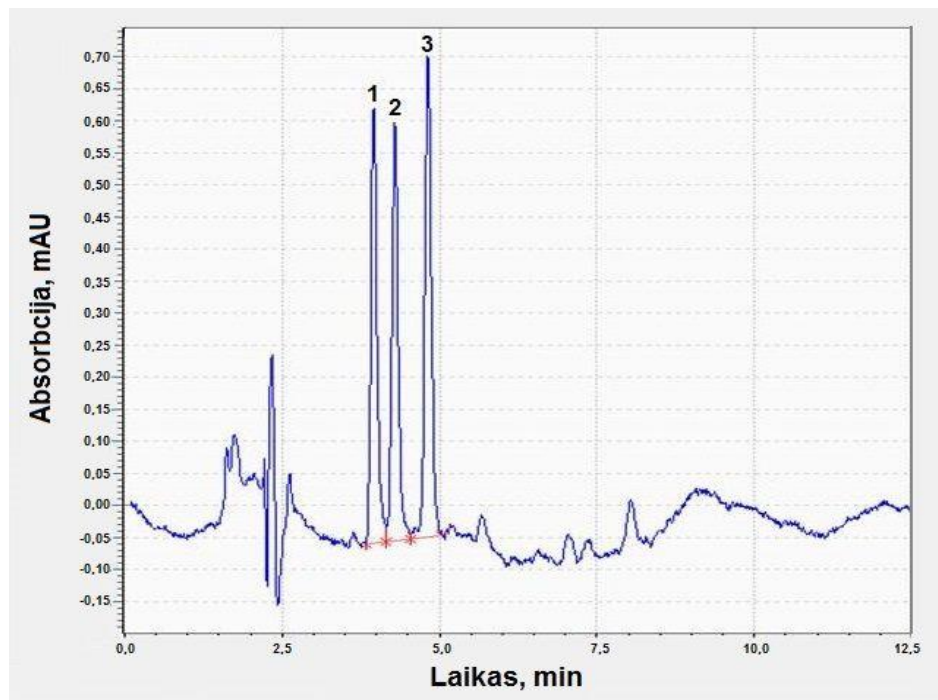
2.2.1.5. Įranga ir matavimo sąlygos

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 UV/Vis detektoriaus. Įvedamas mėginio tūris – 10 µl. Analitės atskyrimui naudota *Zorbax EclipseXDGB-C8* (4,6×150 mm, 5,0 µm) kolonėlė (Agilent, JAV). Chromatografinė kolonėlė termostatuojama 22 °C temperatūroje. Judrios fazės srauto greitis – 1,0 ml/min. Judri fazė formuojama iš dviejų eliuentų: acetonitrilo ir dejonizuoto vandens, santykiu 40:60, v/v. Analizės trukmė – 20 min. Kortizolio absorbcijos signalas registruojamas 245 nm bangos ilgyje. Nustatomos analitės sulaikymo trukmė – 4,12 min.

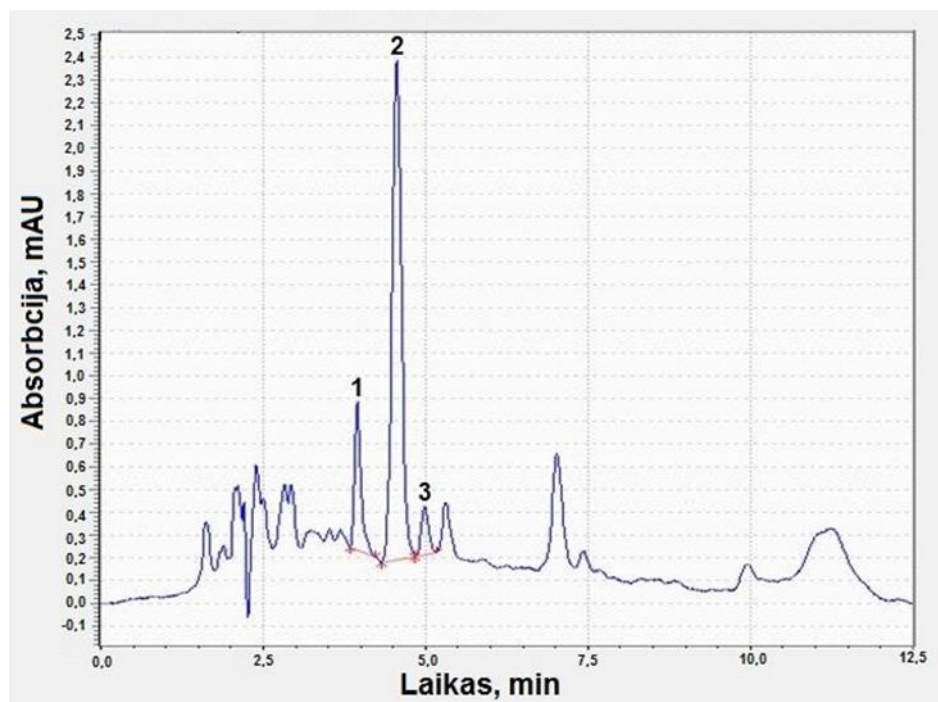
2.2.1.6. Kortizolio koncentracijos įvertinimas

Gauti matavimų duomenys buvo apdorojami *LabSolutions* programine įranga. Programos suintegruoti ir apskaičiuoti smaيليų plotai naudojami kortizolio koncentracijai apskaičiuoti pagal kalibracinę kreivę. Kortizolio, kortizono ir 6- α -metilprednizolono standartinių tirpalų mišinio (100 ng/ml) chromatograma pavaizduota 5 pav., o 6 pav. pateikta tiriamojo plaukų mėginio ekstrakto chromatograma.

Kortizolio kalibracinės kreivės tiesiškumo intervalas buvo matuojamas su septyniomis skirtingomis analitės koncentracijomis intervale nuo 5 ng/ml iki 150 ng/ml. Apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (r^2) kortizoliui lygus 0,9998, aptikimo riba – 15,6 ng/ml, o nustatymo riba – 47,2 ng/ml.



5 pav. Kortizolio (1), kortizono (2) ir 6- α -metilprednizolono (3) standartinių tirpalų mišinio (100 ng/ml) chromatograma.



6 pav. Tiriamojo plaukų mėginio ekstrakto, gauto KFE metodu, chromatograma. Smailės: 1 – kortizolis, 2 – kortizonas, 3 – 6- α -metilprednizolonas.

2.2.2. Kortizolio koncentracijos kraujo serume nustatymas imunofermentiniu metodu

2.2.2.1. Įranga, priemonės ir reagentai

- „Cortisol ELISA“ rinkinys (LDN[®], Vokietija) kortizolio kiekybiniam nustatymui kraujo serume ir plazmoje. Rinkinio sudėtyje: 96 šulinėlių plokštelė (padengta kortizoliui specifiniais monokloniniais antikūnais), konjugatas (krienų peroksidaze konjuguotas kortizolis), substratas (tetrametilbenzidinas), reakciją sustabdantis tirpalas (0,5 M H₂SO₄ tirpalas), plovimo tirpalas (40x), standartinės medžiagos (0 ng/ml, 20 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 400 ng/ml, 800 ng/ml), kontrolinės medžiagos;
- Dejonizuotas vanduo, paruoštas vandens gryninimo įranga PURELAB[®] Flex-3 (Elga[®], Jungtinė Karalystė);
- *Gemini* automatinis analizatorius (Stratec Biomedical, Vokietija).

2.2.2.2. Metodo principas

Plokštelės šulinėliai padengti kortizoliui specifiniais monokloniniais antikūnais. Paciento kraujo serume esantis endogeninis kortizolis bei krienų peroksidaze konjuguotas kortizolis (naudojamas kaip reagentas, įeinantis į rinkinio sudėtį) konkuruoja dėl riboto surišimo vietų skaičiaus prie plokštelėje imobilizuotų monokloninių antikūnų. Pridėjus substrato, įvyksta fermentinė reakcija susidarant spalvotam junginiui. Pastarojo spalvos intensyvumas yra atvirkščiai proporcingas kortizolio koncentracijai paciento kraujo serume.

2.2.2.3. Imunofermentinės analizės procedūra

Gemini automatiniame analizatoriuje buvo sukurtas specialus kortizolio tyrimo protokolas, sudarytas pagal gamintojo pateiktas rekomendacijas:

1. Į 96 šulinėlių plokštelę pilama po 20 μl skirtingų koncentracijų standartinių medžiagų, kontrolinės medžiagos ir tiriamųjų kraujo serumo;
2. Į kiekvieną šulinėlį pilama po 200 μl konjugato; Sumaišius inkubuojama 1 val. kambario temperatūroje;
3. Atliekami 3 plovimo ciklai kiekvieno ciklo metu naudojant 400 μl plovimo tirpalo vienam šulinėliui;
4. Į visus šulinėlius pilama po 100 μl substrato;
5. Plokštelė inkubuojama 15 min kambario teperatūroje;
6. Į visus šulinėlius pilama 100 μl reakciją sustabdancio tirpalo, turinys sumaišomas;

7. Analizatoriaus skaitytuvu 450 ± 10 nm bangos ilgio šviesoje nustatomas kiekvieno šulinėlio optinis tankis;
8. Iš standartinių medžiagų optinių tankių vidurkių sudaroma kalibracinė kreivė, pagal kurią nustatoma kortizolio koncentracija (ng/ml) tiriamųjų kraujo serume.

2.2.3. Psichosocialinio streso vertinimo klausimynas lėtinio streso lygiui nustatyti

Lėtinio streso lygiui nustatyti naudotas psichosocialinio streso vertinimo klausimynas, parengtas ir patvirtintas LiVicordia projekte [64]. Klausimynas yra sudarytas iš žemiau išvardintų dalių su vertinimo skale.

Darbo aplinka:

- Psichologiniai poreikiai (5–20 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo mažesnių psichologinių poreikių patenkinimą;
- Sprendimų priėmimo galimybės (6–24 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo didesnes sprendimų priėmimo galimybes;
- Įtampa darbe (0,2–3,3 galimų taškų). Taškai skaičiuojami: psichologinių poreikių taškai padalijami iš sprendimų priėmimo galimybių balų. Mažesni rezultatai rodo mažesnę įtampą darbe.

Socialinė parama:

- Socialinė parama darbe (4–32 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnę socialinę paramą darbe;
- Emocinė parama (0–6 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnę emocinę paramą;
- Socialinė integracija (6–36 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo geresnę socialinę integraciją;

Asmenybė:

- Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais (7–28 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo geresnius gebėjimus;
- Savigarba (10–40 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnę savigarbą;
- Vidinė darna (7–91 galimų taškų). Didesnės taškų skaičius rodo didesnę vidinę darną;
- Priešiškumas (48–240 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo mažesnių priešiškumą;
- Imersija arba įsitraukimas (29–116 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnę imersiją;
- Išsekimas (19–57 taškų). Didesnis taškų skaičius rodo stipresnių išsekimą;
- Depresija (0–39 galimų taškų). Didesnis taškų skaičius rodo didesnę depresijos riziką.

2.3. Statistinė duomenų analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojantis Microsoft Office Excel 2010 programa ir R programiniu paketu. Duomenų pasiskirstymo pagal normalųjį dėsnį įvertinimui taikytas Šapiro-Vilko kriterijus. Gauti rezultatai parodė, jog tik širdies susitraukimų dažnio duomenys yra pasiskirstę pagal normalųjį dėsnį, todėl statistinei analizei naudoti neparametriniai kriterijai. Palyginimui tarp dviejų grupių taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Lyginant tris ar daugiau grupių naudotas Kruskalo-Voliso kriterijus, daugkartiniams poriniams palyginimams taikytas Dunn'o testas su Benjamini-Hochberg korekcija, o ryšiui tarp kintamųjų įvertinti – Spirmano koreliacijos koeficientas. Rezultatai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

3. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Tiriamieji

Tiriamųjų imtį sudarė 227 sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys 25–55 metų vyrai. Tiriamieji ($N = 227$) pagal amžių buvo suskirstyti į dvi grupes: jaunas (25–39 metų) ir vidutinio amžiaus (40–55 metų) vyrus. Kortizolio koncentracija plaukuose nustatyta 163 vyrams, iš kurių 84 (51,5 %) priklausė pirmajai, o 79 (48,5 %) – antrajai amžiaus grupei. Kortizolio koncentracija plaukuose nebuvo nustatyta 64 tiriamiesiems, kurie nepateikė savo plaukų mėginio arba mėginio kiekis buvo nepakankamas analizei. Kortizolio koncentracija kraujo serume nustatyta 226 tiriamiesiems (1 tiriamajam kortizolio koncentracijos kraujo serume nustatyti nepavyko dėl nepakankamo mėginio kiekio). Tyrimo dalyviams buvo atliktas klinikinis ištyrimas, apimantis anamnezę, antropometrinius duomenis (ūgis, svoris, liemens apimtis), arterinį kraujo spaudimą (sistolinį ir diastolinį) ir širdies susitraukimų dažnį. Pagal ūgio ir svorio duomenis apskaičiuotas tyrimo dalyvių kūno masės indeksas ($KMI = \frac{\text{svoris (kg)}}{\text{ūgis}^2 \text{ (m}^2\text{)}}$), o pagal sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo vertes nustatytas vidutinis arterinis kraujo spaudimas ($VAKS = \frac{1}{3} (SKS - DKS) + DKS$) (1 lentelė). Taip pat tiriamiesiems asmenims nustatytos lipidų apykaitos rodiklių (bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių, MTL-cholesterolio, DTL-cholesterolio) ir uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo koncentracijos kraujo serume bei gliukozės koncentracija kraujo plazmoje (2 lentelė).

1 lentelė. Tiriamųjų antropometriniai, amžiaus, arterinio kraujo spaudimo (sistolinio ir diastolinio bei vidutinio arterinio kraujo spaudimo), širdies susitraukimų dažnio duomenys.

Rodiklis	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
Ūgis, cm	182	178,5 – 187	166	199
Svoris, kg	84,8	76,6 – 92,975	54,3	178
KMI, kg/m ²	25,19	23,23 – 27,98	16,95	45,40
Liemens apimtis, cm	89	83 – 98	69	141
Amžius, metais	39	30 – 47	25	54
SKS, mm Hg	129	120 – 136	93	175
DKS, mm Hg	76	71 – 84	56	104
VAKS, mmHg	94	88,33 – 101,17	71,67	123
ŠSD, k./min.	64	57 – 71	40	94

Pastaba: KMI – kūno masės indeksas, SKS – sistolinis kraujo spaudimas, DKS – diastolinis kraujo spaudimas, VAKS – vidutinis arterinis kraujo spaudimas, ŠSD – širdies susitraukimų dažnis.

2 lentelė. Tiriamųjų lipidų apykaitos rodiklių, uždegimo žymens C reaktyvus baltymo koncentracijų kraujo serume ir gliukozės koncentracijos kraujo plazmoje duomenys.

Rodiklis	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
B-ch, mmol/l	5,06	4,48 – 5,86	3,04	8,73
TAG, mmol/l	1,19	0,88 – 1,76	0,41	9,94
DTL-ch, mmol/l	1,2	1,04 – 1,39	0,58	2,21
MTL-ch, mmol/l	3,2	2,68 – 3,82	1,56	5,95
CRB, mg/l	0,645	0,3575 – 1,37	0,1	31
Gliukozė, mmol/l	5,24	4,99 – 5,54	4,15	8,13

Pastaba: B-ch – bendrasis cholesterolis, TAG – triacilgliceroliai, DTL-ch – DTL cholesterolis, MTL-ch – MTL cholesterolis, CRB – C reaktyvus baltymas.

Pagal tiriamųjų užpildytą psichosocialinio streso vertinimo klausimyną gauta informacija apie tyrimo dalyvių civilinę bei šeimyninę padėtį, išsilavinimą, atlyginimą, naktinį ir/ar papildomą darbą, fizinį aktyvumą darbe ir laisvalaikiu, rūkymo įpročius bei alkoholio vartojimą. Šie socioekonominiai duomenys pateikiami 3 lentelėje.

3 lentelė. Tiriamųjų socioekonominiai duomenys.

	Tiriamųjų skaičius N (%)
Civilinė padėtis	
Vedęs/turi sugyventinį	170 (74,9)
Nevedęs/išsiskyręs/našlys	54 (23,8)
Nėra duomenų	3 (1,3)

3 lentelės tęsinys.

	Tiriamųjų skaičius N (%)
Šeimyninė padėtis	
Gyvena vienas	23 (10,1)
Gyvena ne vienas	201 (88,5)
Nėra duomenų	3 (1,4)
Išsilavinimas	
Turi vidurinį/aukštesnį išsilavinimą	17 (7,5)
Turi aukštą išsilavinimą	207 (91,1)
Nėra duomenų	3 (1,4)
Atlyginimas per mėnesį	
< 300 eurų	5 (2,2)
300–700 eurų	29 (12,8)
> 700 eurų	189 (83,3)
Nėra duomenų	4 (1,7)
Naktinis darbas	
Dirba naktinį darbą	29 (12,8)
Nedirba naktinio darbo	194 (85,5)
Nėra duomenų	4 (1,7)
Papildomas darbas	
Dirba papildomą darbą	51 (22,5)
Nedirba papildomo darbo	173 (76,2)
Nėra duomenų	3 (1,3)
Fizinis aktyvumas darbe	
Dirba sėdimą darbą	153 (67,4)
Nedirba sėdimą darbo	71 (31,3)
Nėra duomenų	3 (1,3)
Fizinis aktyvumas laisvalaikiu	
Laisvalaikis neaktyvus	45 (19,8)
Laisvalaikis aktyvus	178 (78,4)
Nėra duomenų	4 (1,8)
Rūkymas	
Rūko	179 (78,8)
Nerūko	44 (19,4)
Nėra duomenų	4 (1,8)
Rūkymas anksčiau	
Rūkė anksčiau	112 (49,3)
Niekada nerūkė	109 (48,0)
Nėra duomenų	6 (2,7)

Naudojantis tiriamųjų užpildytu psichosocialinio streso vertinimo klausimynu įvertintas tyrimo dalyvių patiriamo streso lygis. Rezultatai pateikiami 4 lentelėje.

4 lentelė. Psichosocialinio streso vertinimo klausimyno rezultatai.

	Taškų skalės intervalas	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)
Darbo aplinka			
Psichologiniai poreikiai	5–20	13,5	12 – 15
Sprendimų priėmimo galimybės	6–24	20	18 – 21
Įtampa darbe	0,2–3,3	0,67	0,57 – 0,8
Socialinė parama			
Socialinė parama darbe	4–32	24	22 – 27
Emocinė parama	0–6	4	4 – 5
Socialinė integracija	6–36	19	16 – 23
Asmenybė			
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	7–28	24	22 – 27
Savigarba	10–40	31	29 – 35
Vidinė darna	7–91	64	58 – 72
Priešiškumas	48–240	132	117,75 – 140,25
Įsitraukimas (imersija)	29–116	72	65 – 80
Išsekimas	19–57	31	26 – 35
Depresija	0–39	2	0 – 4

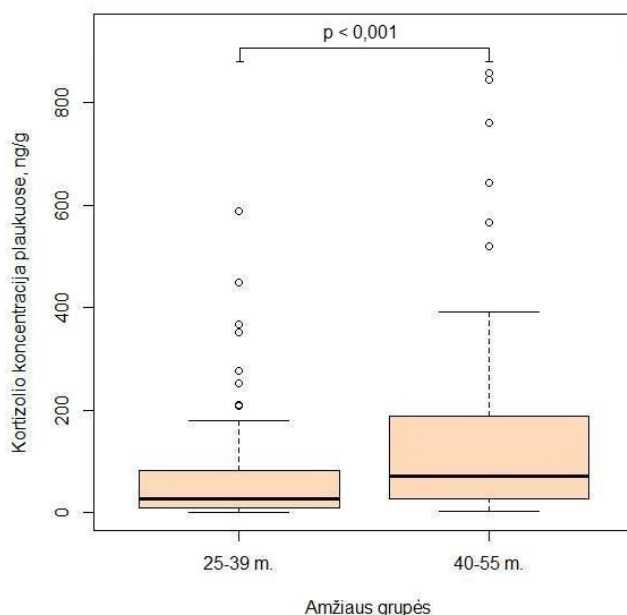
3.2. Kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas jaunų (25–39 metų) ir vidutinio amžiaus (40–55 metų) vyrų grupėse

163 tiriamiesiems nustatyta kortizolio koncentracijos plaukuose mediana – 46,182 ng/g. Iš 5 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad kortizolio koncentracijos plaukuose mediana didesnė vidutinio amžiaus (40–55 metų) vyrų grupėje.

5 lentelė. Kortizolio koncentracijos plaukuose (ng/g) pasiskirstymas tarp dviejų amžiaus grupių.

Amžius	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
25–39	84	26,632	9,347 – 79,904	0,633	587,436
40–55	79	72,265	26,432 – 187,480	3,441	858,314

Siekiant palyginti kortizolio koncentracijos plaukuose medianų skirtumus tarp dviejų amžiaus grupių (jaunų ir vidutinio amžiaus vyrų) taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Gauti rezultatai parodė, kad jaunų vyrų kortizolio koncentracijos plaukuose mediana yra statistiškai reikšmingai ($p < 0,001$) mažesnė nei vidutinio amžiaus vyrų (7 pav.).



7 pav. Kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas tarp dviejų tiriamųjų amžiaus grupių.

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir amžiaus, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas, kuris parodė silpną ($r = 0,254$), bet statistiškai reikšmingą ($p = 0,001$) ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir amžiaus.

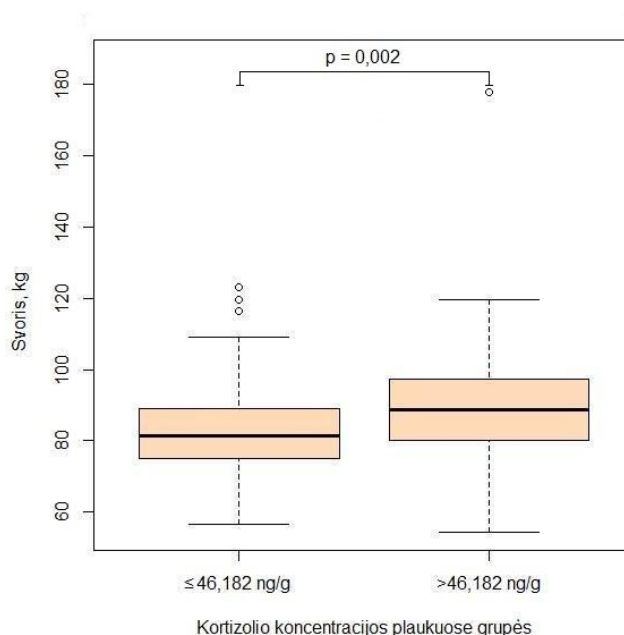
3.3. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų antropometrinių duomenų (svorio, liemens apimties, KMI) ryšys

Tolimesnei statistinei analizei vyrų kortizolio koncentracijos plaukuose vertės buvo suskirstytos į dvi grupes: pirmoje grupėje kortizolio koncentracija plaukuose mažesnė arba lygi medianai ($\leq 46,182$ ng/g), o antroje grupėje kortizolio koncentracija plaukuose didesnė nei mediana ($> 46,182$ ng/g). Iš 6 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad antrajai tiriamųjų grupei (kortizolio koncentracija plaukuose $> 46,182$ ng/g) būdingos didesnės svorio, KMI ir liemens apimties medianų reikšmės.

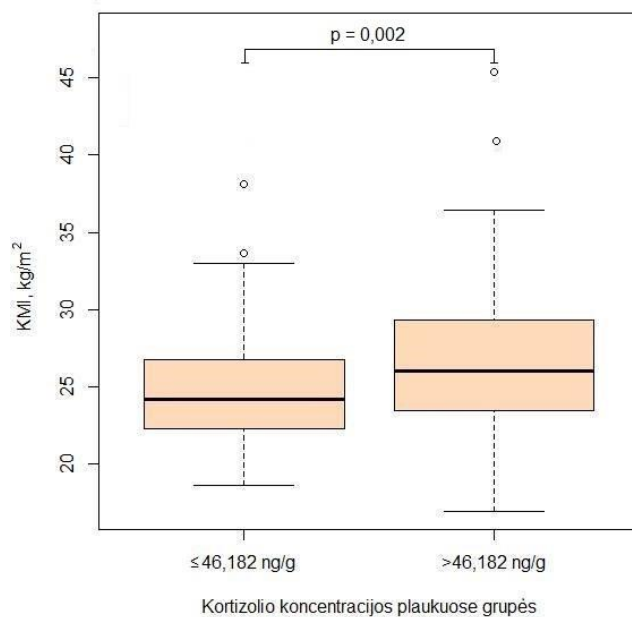
6 lentelė. Svorio, KMI, liemens apimties pasiskirstymas tarp dviejų tiriamųjų grupių, suskirstytų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose.

Svoris, kg					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	81,25	74,925 – 88,825	56,4	123
>46,182	81	88,60	80,0 – 97,2	54,3	178
KMI, kg/m²					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	24,21	22,41 – 26,76	18,63	38,14
>46,182	81	26,00	23,45 – 29,3	16,95	45,40
Liemens apimtis, cm					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	81	86	81 – 94	70	123
>46,182	81	92	85 – 101	69	141

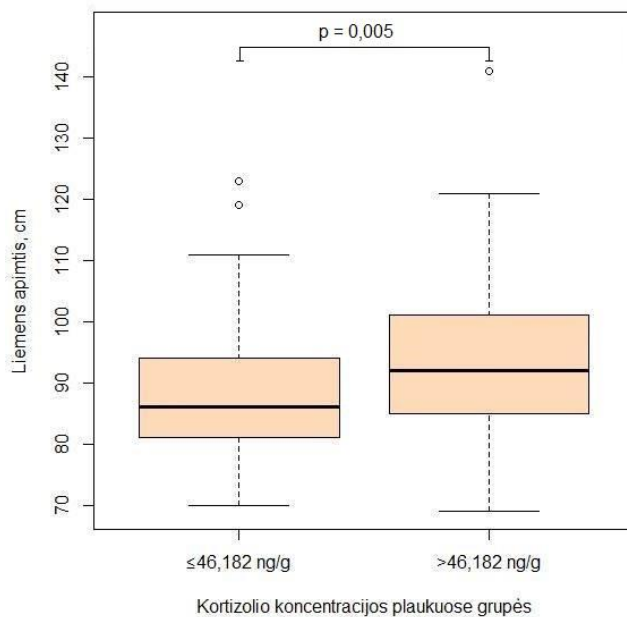
Siekiant palyginti tiriamųjų antropometrinių duomenų (svorio, KMI, liemens apimties) skirtumus tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Pritaikius pastarąjį kriterijų nustatyta, jog būdingi statistiškai reikšmingi skirtumai tarp dviejų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose suskirstytų vyrų grupių kūno svorio ($p = 0,002$), KMI ($p = 0,002$) bei liemens apimties ($p = 0,005$) medianų verčių (8–10 pav.)



8 pav. Svorio pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



9 pav. KMI pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



10 pav. Liemens apimties pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

Išsamesnei statistinei analizei kortizolio koncentracijos plaukuose vertės buvo suskirstytos į 4 grupes pagal kvartilų skaitines reikšmes ($Q_1 = 16,163$; $Q_2 = 46,182$; $Q_3 = 135,453$) (7 lentelė).

7 lentelė. Kortizolio koncentracijos plaukuose grupės, suskirstytos pagal kvartilių skaitines reikšmes.

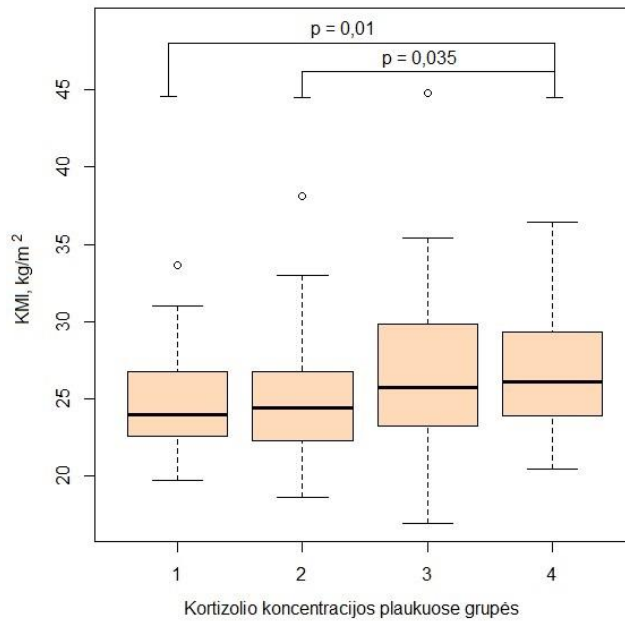
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Kortizolio koncentracijos plaukuose intervalas, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)
1	[0,633; 16,163]	41
2	(16,163; 46,182]	41
3	(46,182; 135,453]	40
4	(135,453; 858,314]	41

Iš 8 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad didėjant kortizolio koncentracijos plaukuose grupės numeriui (numeris atitinka kortizolio koncentracijos plaukuose intervalą), didėja ir KMI bei liemens apimties medianų vertės.

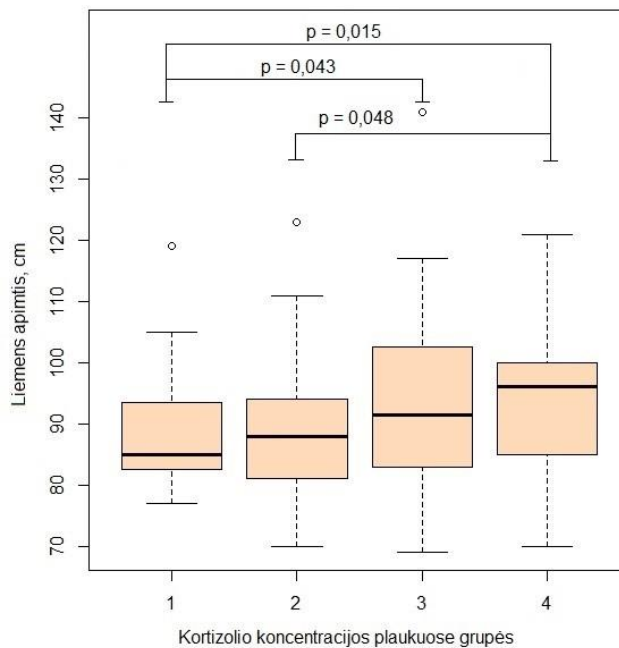
8 lentelė. KMI bei liemens apimties verčių pasiskirstymas tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

KMI, kg/m²					
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
1	41	23,96	22,63 – 26,78	19,76	33,67
2	41	24,44	22,33 – 26,74	18,63	38,14
3	40	25,75	23,25 – 29,52	16,95	45,40
4	41	26,12	23,92 – 29,30	20,46	36,48
Liemens apimtis, cm					
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
1	40	85,0	82,75 – 93,25	77,0	119,0
2	41	88,0	81,0 – 94,0	70,0	123,0
3	40	91,5	83,0 – 102,25	69,0	141,0
4	41	96,0	85,0 – 100,0	70,0	121,0

Siekiant palyginti KMI bei liemens apimties vertes tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių taikytas Kruskalo-Voliso kriterijus. Nustatyti statistiškai reikšmingi KMI ($p = 0,031$) ir liemens apimties ($p = 0,039$) medianų skirtumai tarp grupių. Gavus statistiškai reikšmingus rezultatus daugkartiniams poriniams palyginimams taikytas Dunn'o testas su Benjamini-Hochberg korekcija. Gauti rezultatai parodė statistiškai reikšmingus KMI bei liemens apimties medianų skirtumus tarp 1-osios ir 4-osios ($p = 0,010$ ir $p = 0,015$), 2-osios ir 4-osios ($p = 0,035$ ir $p = 0,048$) kortizolio koncentracijos plaukuose grupių bei liemens apimties medianų skirtumus tarp 1-osios ir 3-iosios ($p = 0,043$) grupės (11, 12 pav.).



11 pav. KMI pasiskirstymas tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



12 pav. Liemens apimties pasiskirstymas tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir antropometrinių duomenų, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas. Nustatyti silpni, bet statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir visų antropometrinių rodiklių: kūno svorio ($r = 0,208$, $p = 0,008$), KMI ($r = 0,217$, $p = 0,005$) bei liemens apimties ($r = 0,211$, $p = 0,007$).

3.4. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų arterinio kraujo spaudimo (sistolinio ir diastolinio, vidutinio arterinio kraujo spaudimo) bei širdies susitraukimų dažnio ryšys

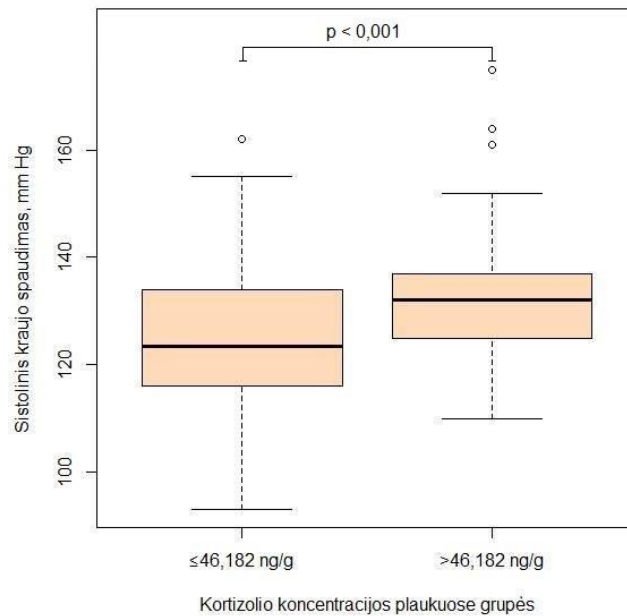
Naudojantis 3.3 skyriuje aptartu tiriamųjų suskirstymu į grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose, nagrinėtas tyrimo dalyvių sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo, vidutinio arterinio kraujo spaudimo ir širdies susitraukimų dažnio pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose ($\leq 46,182$ ng/g ir $> 46,182$ ng/g) grupių. Iš 9 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad antrajai tiriamųjų grupei (kortizolio koncentracija plaukuose $> 46,182$ ng/g) būdingos didesnės sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo, vidutinio arterinio kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio medianų reikšmės.

9 lentelė. Sistolinio, diastolinio ir vidutinio arterinio kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio pasiskirstymas tarp dviejų tiriamųjų grupių, suskirstytų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose.

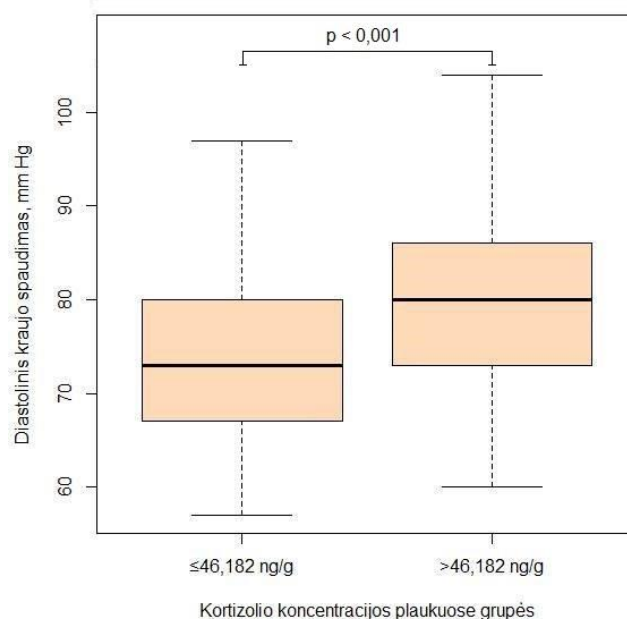
Sistolinis kraujo spaudimas, mmHg					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
$\leq 46,182$	82	123,5	116 – 133,75	93	162
$> 46,182$	81	132	125 – 137	110	175
Diastolinis kraujo spaudimas, mmHg					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
$\leq 46,182$	82	73	67 – 80	57	97
$> 46,182$	81	80	73 – 86	60	104
Vidutinis arterinis kraujo spaudimas, mmHg					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
$\leq 46,182$	82	89,3	84,3 – 96,7	71,7	117,3
$> 46,182$	81	96,3	91,3 – 103,7	80,0	123,0
Širdies susitraukimų dažnis, k./min.					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
$\leq 46,182$	82	61	55,25 – 71	40	94
$> 46,182$	81	64	58 – 69	42	90

Siekiant palyginti tiriamųjų sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo, vidutinio arterinio kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio skirtumus tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Pritaikius pastarąjį kriterijų nustatyta, jog būdingi statistiškai reikšmingi skirtumai tarp dviejų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose

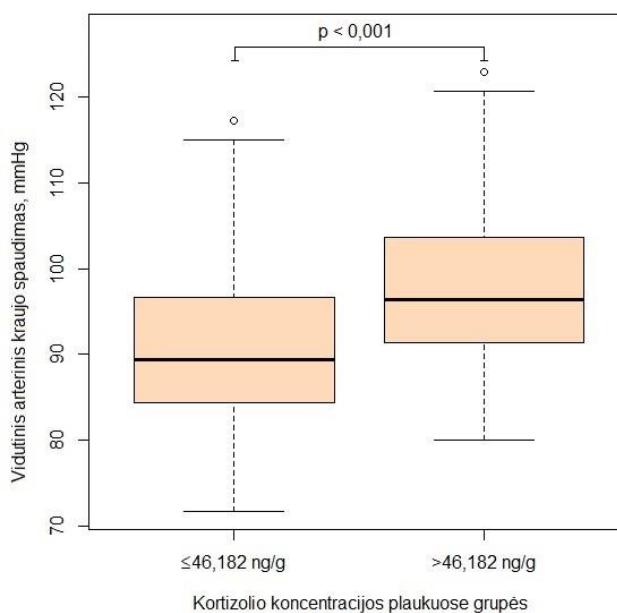
suskirstytų vyrų grupių sistolinio kraujo spaudimo ($p < 0,001$), diastolinio kraujo spaudimo ($p < 0,001$) ir vidutinio arterinio kraujo spaudimo ($p < 0,001$) medianų verčių (13–15 pav.), tačiau statistiškai reikšmingų širdies susitraukimų dažnio medianų skirtumų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose grupių nenustatyta ($p = 0,318$).



13 pav. Sistolinio kraujo spaudimo pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



14 pav. Diastolinio kraujo spaudimo pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



15 pav. Vidutinio arterinio kraujo spaudimo pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir arterinio kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas. Nustatyti silpni, bet statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir vidutinio arterinio kraujo spaudimo ($r = 0,359$, $p < 0,001$), sistolinio ($r = 0,339$, $p < 0,001$) bei diastolinio ($r = 0,320$, $p < 0,001$) kraujo spaudimo. Statistiškai reikšmingos koreliacijos tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir širdies susitraukimų dažnio nenustatyta ($p = 0,242$).

3.5. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų lipidų apykaitos rodiklių, jų santykių, uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo bei gliukozės koncentracijos ryšys

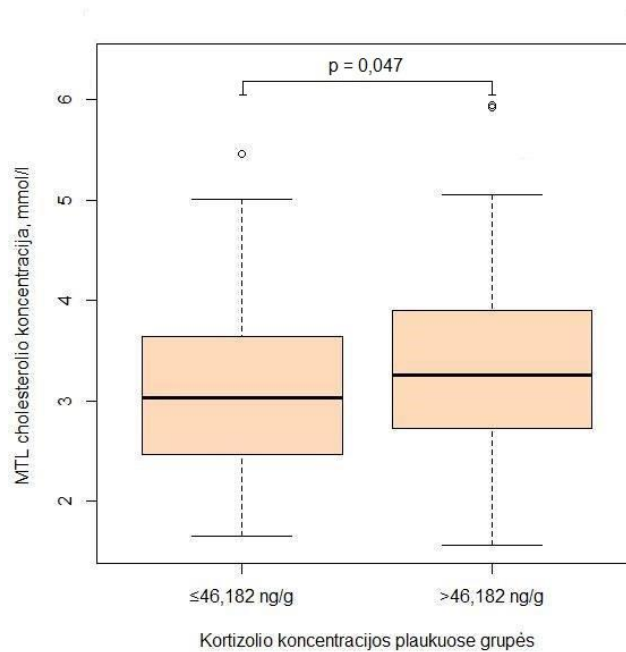
Naudojantis 3.3 skyriuje aptartu tiriamųjų suskirstymu į grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose, nagrinėtas tyrimo dalyvių lipidų apykaitos rodiklių, uždegimo žymens CRB bei gliukozės koncentracijų pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose ($\leq 46,182$ ng/g ir $> 46,182$ ng/g) grupių. Iš 10 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad antrajai tiriamųjų grupei (kortizolio koncentracija plaukuose $> 46,182$ ng/g plaukų) būdingos didesnės B-ch, MTL-ch, TAG, CRB, gliukozės koncentracijų medianų vertės ir mažesnė DTL-ch koncentracijos mediana lyginant su pirmąja grupe.

10 lentelė. Lipidų apykaitos rodiklių (B-ch, MTL-ch, DTL-ch, TAG), uždegimo žymens CRB bei gliukozės koncentracijų pasiskirstymas tarp dviejų tiriamųjų grupių, suskirstytų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose.

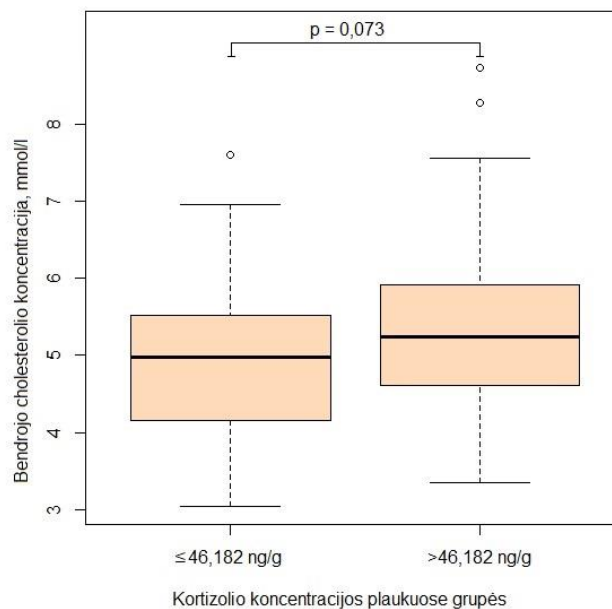
B-ch, mmol/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	4,975	4,173 – 5,503	3,04	7,60
>46,182	79	5,240	4,605 – 5,92	3,35	8,73
MTL-ch, mmol/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	3,03	2,468 – 3,623	1,65	5,46
>46,182	79	3,26	2,73 – 3,9	1,56	5,95
DTL-ch, mmol/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	1,205	1,070 – 1,378	0,58	1,97
>46,182	79	1,180	1,025 – 1,41	0,77	2,21
TAG, mmol/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	1,145	0,88 – 1,69	0,41	9,94
>46,182	79	1,220	0,86 – 1,85	0,65	4,93
CRB, mg/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	0,585	0,3 – 1,23	0,1	31,0
>46,182	78	0,685	0,4 – 1,3	0,1	7,6
Gliukozė, mmol/l					
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
≤46,182	82	5,20	4,97 – 5,4	4,15	6,85
>46,182	79	5,28	4,99 – 5,57	4,19	7,61

Siekiant palyginti tiriamųjų lipidų apykaitos rodiklių, CRB bei gliukozės koncentracijų skirtumus tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių taikytas Mano-Vitnio U kriterijus, kuris parodė statistiškai reikšmingą ($p = 0,047$) MTL-ch koncentracijos medianų skirtumą tarp dviejų grupių (16 pav.) bei artėjantį prie statistiškai reikšmingo rezultato ($p = 0,073$) B-ch koncentracijos medianų skirtumą tarp grupių (17 pav.). Statistiškai reikšmingų

DTL-ch ($p = 0,613$), TAG ($p = 0,358$), CRB ($p = 0,290$) bei gliukozės ($p = 0,149$) koncentracijų medianų skirtumų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose grupių nenustatyta.



16 pav. MTL-ch koncentracijos pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.



17 pav. B-ch koncentracijos pasiskirstymas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

Tiriamiesiems buvo apskaičiuotos lipidų apykaitos rodiklių santykių (TAG/DTL-ch, B-ch/DTL-ch, MTL-ch/DTL-ch) vertės. Iš 11 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad didėjant kortizolio koncentracijos plaukuose grupės numeriui (numeris atitinka kortizolio koncentracijos plaukuose intervalą), didėja ir B-ch/DTL-ch bei TAG/DTL-ch medianų vertės. Tokia tendencija nenustatyta lyginant MTL-ch/DTL-ch verčių medianas tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių.

11 lentelė. Lipidų apykaitos rodiklių santykių (TAG/DTL-ch, B-ch/DTL-ch, MTL-ch/DTL-ch) verčių pasiskirstymas tarp keturių tiriamųjų grupių, suskirstytų pagal kortizolio koncentraciją plaukuose.

TAG/DTL-ch					
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
1	41	0,822	0,567 – 1,380	0,369	2,280
2	41	0,925	0,688 – 1,649	0,514	17,138
3	40	1,002	0,784 – 1,661	0,357	4,667
4	39	1,120	0,569 – 1,724	0,386	3,814
B-ch /DTL-ch					
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
1	41	3,845	3,284 – 4,633	2,429	6,17
2	41	4,087	3,171 – 4,773	2,732	9,0
3	40	4,221	3,551 – 5,161	2,520	8,129
4	39	4,370	3,439 – 5,417	2,525	8,892
MTL-ch/DTL-ch					
Kortizolio koncentracijos plaukuose grupė	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
1	41	2,495	2,046 – 3,046	1,184	4,267
2	41	2,661	1,897 – 3,191	1,471	4,679
3	40	2,610	2,226 – 3,176	1,357	5,141
4	39	2,852	2,120 – 3,680	1,347	6,396

Siekiant palyginti TAG/DTL-ch, B-ch/DTL-ch, MTL-ch/DTL-ch vertes tarp keturių kortizolio koncentracijos plaukuose grupių taikytas Kruskalo-Voliso kriterijus, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatyta.

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir lipidų apykaitos rodiklių bei jų santykių verčių, CRB bei gliukozės koncentracijų, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas. Nustatyti silpni, bet statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir B-ch ($r = 0,234$, $p = 0,003$) bei MTL-ch koncentracijų ($r = 0,230$, $p = 0,003$). Statistiškai reikšmingos koreliacijos tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir kitų minėtų rodiklių nenustatyta.

3.6. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir rūkymo ryšys

Pagal tiriamųjų užpildytą psichosocialinio streso vertinimo klausimyną įvertinti tyrimo dalyvių rūkymo įpročiai. Iš 163 tiriamųjų, kuriems buvo nustatyta kortizolio koncentracija plaukuose, 27 (16,56 %) asmenys yra rūkantys, 132 (80,98 %) nerūko, o 4 (2,45 %) tyrimo dalyviai informacijos apie rūkymo įpročius nepateikė. 79 (48,47 %) asmenys tvirtino, jog yra rūkę anksčiau, 78 (47,85 %) tiriamieji teigė niekada nerūkę, o 6 (3,68 %) asmenys apie ankstesnius rūkymo įpročius informacijos nepateikė. Iš 12 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad tiek šiuo metu rūkantiems, tiek anksčiau rūkiusiems būdingos didesnės kortizolio koncentracijos plaukuose medianos lyginant su šiuo metu nerūkančiais ir niekada nerūkiusiais tiriamaisiais.

12 lentelė. Kortizolio koncentracijos plaukuose (ng/g) pasiskirstymas tarp rūkančių ir nerūkančių bei tarp anksčiau rūkiusių ir niekada nerūkiusių tiriamųjų.

Rūkymas dabar	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
Ne	132	39,818	14,61 – 117,112	0,633	858,314
Taip	27	64,695	29,008 – 159,748	5,737	518,999
Rūkymas anksčiau	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
Ne	78	41,043	16,073 – 759,815	2,254	759,815
Taip	79	42,584	15,283 – 137,642	0,633	858,313

Siekiant palyginti kortizolio koncentracijos plaukuose skirtumus tarp skirtingais rūkymo įpročiais pasižyminčių tiriamųjų grupių, taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Gauti rezultatai parodė, kad nėra statistiškai reikšmingų kortizolio koncentracijos plaukuose medianų skirtumų tarp šiuo metu rūkančių ir nerūkančių ($p = 0,113$) bei tarp anksčiau rūkiusių ir niekada nerūkiusių ($p = 0,912$) tiriamųjų.

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų rūkymo įpročių, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas. Statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir rūkymo šiuo metu ($r = 0,126$, $p = 0,113$) ar anksčiau ($r = 0,009$, $p = 0,911$) nenustatyta.

3.7. Kortizolio koncentracijos plaukuose ir fizinio aktyvumo darbe ir laisvalaikio ryšys

Pagal tiriamųjų užpildytą psichosocialinio streso vertinimo klausimyną įvertintas tyrimo dalyvių fizinis aktyvumas darbe ir laisvalaikio. Iš 163 tiriamųjų, kuriems buvo nustatyta kortizolio koncentracija plaukuose, 111 (68,1 %) asmenų dirba sėdimą darbą, 49 (30,1 %) sėdimo darbo nedirba ir jų fizinis aktyvumas darbe yra didesnis, o 3 (1,8 %) tyrimo dalyviai

informacijos apie fizinį aktyvumą darbe nepateikė. 130 (79,8 %) asmenų tvirtino, jog jų laisvalaikis yra aktyvus, 29 (17,8 %) tiriamieji teigė laisvalaikį leidžiantys neaktyviai, o 4 (2,4 %) asmenys informacijos apie fizinį aktyvumą laisvalaikiu nepateikė. Iš 13 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad sėdimą darbą dirbančių tiriamųjų kortizolio koncentracijos plaukuose mediana yra didesnė lyginant su tiriamaisiais, kurių fizinė veikla darbe yra intensyvesnė. Panaši situacija stebima ir fizinio aktyvumo laisvalaikiu grupėse: intensyvesne fizine veikla laisvalaikiu užsiimančių tiriamųjų kortizolio koncentracijos plaukuose mediana yra mažesnė lyginant su neaktyviai laisvalaikį leidžiančiais tyrimo dalyviais.

13 lentelė. Kortizolio koncentracijos plaukuose (ng/g) pasiskirstymas tarp skirtingu fiziniu aktyvumu darbe ir laisvalaikiu pasižyminčių tiriamųjų.

Fizinis aktyvumas darbe	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
Dirba sėdimą darbą	111	46,182	16,440 – 132,917	0,633	858,314
Nedirba sėdimo darbo	49	35,226	15,917 – 114,854	2,859	845,147
Fizinis aktyvumas laisvalaikiu	Tiriamųjų skaičius (N)	Mediana	Kvartiliai (Q ₁ – Q ₃)	Minimali vertė (Min)	Maksimali vertė (Max)
Neaktyvus laisvalaikis	29	51,657	20,854 – 136,142	5,737	845,147
Aktyvus laisvalaikis	130	38,220	15,934 – 129,845	0,633	858,314

Siekiant palyginti kortizolio koncentracijos plaukuose skirtumus tarp skirtingu fiziniu aktyvumu darbe ir laisvalaikiu pasižyminčių tiriamųjų grupių, taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Gauti rezultatai parodė, kad nėra statistiškai reikšmingų kortizolio koncentracijos plaukuose skirtumų tarp darbe bei laisvalaikiu fiziškai aktyvių ir neaktyvių asmenų (atitinkamai $p = 0,774$ ir $p = 0,587$).

Vertinant ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų fizinio aktyvumo darbe ir laisvalaikiu, naudotas Spirmano koreliacijos koeficientas. Statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir fizinio aktyvumo darbe ($r = -0,021$, $p = 0,792$) ar laisvalaikiu ($r = -0,075$, $p = 0,348$) nenustatyta.

3.8. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir lėtinio psichosocialinio streso

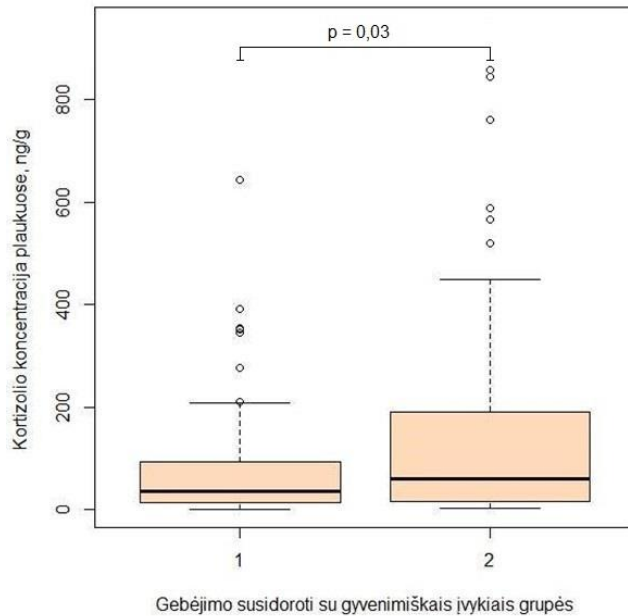
Tyrimo metu vertintas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių. Apskaičiavus Spirmano koreliacijos koeficientą

paaiškėjo, jog yra labai silpnas, tačiau statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų jaučiamos emocinės paramos ($r = 0,180$, $p = 0,023$) bei gebėjimo susidoroti su gyvenimiškais įvykiais ($r = 0,169$, $p = 0,032$). Tarp kitų psichosocialinio streso klausimyno dalių ir kortizolio koncentracijos plaukuose statistiškai reikšmingų ryšių nustatyti nepavyko (14 lentelė).

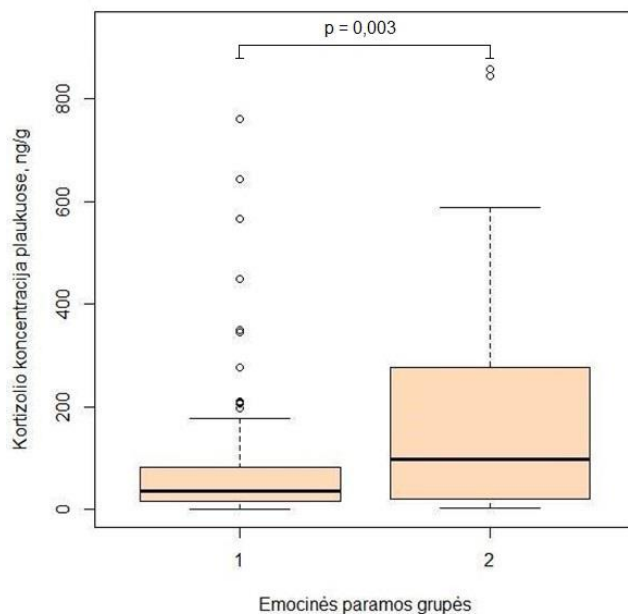
14 lentelė. Atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių ryšiai su kortizolio koncentracija plaukuose.

Psichosocialinio streso klausimyno dalis	Koreliacijos koeficientas (r)	p reikšmė
<i>Darbo aplinka</i>		
Psichologiniai poreikiai	0,055	0,490
Sprendimų priėmimo galimybės	– 0,016	0,847
Įtampa darbe	0,086	0,283
<i>Socialinė parama</i>		
Socialinė parama darbe	0,052	0,516
Emocinė parama		
Socialinė integracija	– 0,006	0,939
<i>Asmenybė</i>		
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais		
Savigarba	0,098	0,219
Vidinė darna	0,127	0,111
Priešiškumas	– 0,066	0,405
Įsitraukimas (imersija)	0,010	0,898
Išsekimas	– 0,107	0,178
<i>Depresija</i>		
	– 0,140	0,077

Tolimesnei statistinei analizei atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių rezultatai buvo suskirstyti į dvi grupes: rezultatai mažesni ar lygūs medianai (1 grupė) ir didesni nei mediana (2 grupė). Siekiant palyginti tiriamųjų kortizolio koncentracijos plaukuose medianų skirtumus tarp dviejų minėtų grupių taikytas Mano-Vitnio U kriterijus. Pritaikius pastarąjį kriterijų nustatyta, jog būdingi statistiškai reikšmingi kortizolio koncentracijos plaukuose medianų skirtumai tarp gebėjimo susidoroti su gyvenimiškais įvykiais (35,226 ng/g vs 60,92 ng/g, $p = 0,03$) bei emocinės paramos (35,748 ng/g vs 97,379 ng/g, $p = 0,003$) grupių (16, 17 pav.).



16 pav. Kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas tarp dviejų gebėjimo susidoroti su gyvenimiškais įvykiais grupių.



17 pav. Kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas tarp dviejų emocinės paramos grupių.

3.9. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose, seilėse ir kraujo serume

Siekiant įvertinti ryšį tarp kortizolio koncentracijos tiriamųjų plaukų, seilių bei kraujo serumo mėginiuose, taikytas Spirmano koreliacijos koeficientas. Kortizolio koncentraciją plaukuose ir seilėse sieja tiesioginė priklausomybė, o kortizolio koncentraciją plaukuose ir kraujo serume bei kortizolio koncentraciją kraujo serume ir seilėse – atvirkštinė priklausomybė.

Iš 15 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad visi minėti ryšiai yra labai silpni ir statistiškai nereikšmingi.

15 lentelė. Ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose, seilėse ir kraujo serume.

	Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g	Kortizolio koncentracija seilėse, ng/ml	Kortizolio koncentracija kraujo serume, ng/ml
Kortizolio koncentracija plaukuose, ng/g		$r = 0,079, p = 0,40$	$r = -0,126, p = 0,109$
Kortizolio koncentracija seilėse, ng/ml	$r = 0,079, p = 0,40$		$r = -0,024, p = 0,766$
Kortizolio koncentracija kraujo serume, ng/ml	$r = -0,126, p = 0,109$	$r = -0,024, p = 0,766$	

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Daugelyje ankstesnių tyrimų pogumburio-hipofizės-antinksčių ašies aktyvumas buvo vertinamas tiriant kortizolio koncentraciją seilėse, šlapime ir kraujo serume. Minėtose terpėse išmatuota kortizolio koncentracija atspindi momentinį arba trumpalaikį PHA ašies aktyvumą, nes rezultatams įtakos turi cirkadinis ritmas, pulsinė kortizolio sekrecija bei tokie aplinkos veiksniai kaip ūminis stresas ar infekcija [16, 22, 23, 40]. Manoma, jog būtent lėtinis stresas, lemiantis ilgalaikį PHA ašies aktyvumo padidėjimą ir dėl to išsivystantį hiperkortizolizmą, yra susijęs su metabolinio sindromo, aterosklerozės ir kitų lėtinių ligų išsivystymu. Todėl pastarąjį dešimtmetį ilgalaikio PHA ašies aktyvumo stebėsenai kaip tiriamoji medžiaga pradėti naudoti plaukai, pasižymintys unikalia savybe kaupti laisvąjį kortizolį ir kitas lipofilines medžiagas [40]. Šiame darbe nagrinėta sąsaja tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų amžiaus, antropometrinių duomenų, lipidų ir angliavandenių apykaitos rodiklių, uždegimo žymens C reaktyvaus baltymo, rūkymo įpročių, fizinio aktyvumo darbe ir laisvalaikio bei subjektyviai įvertinto patiriamo lėtinio psichosocialinio streso lygio. Taip pat tyrimo metu išanalizuoti ryšiai tarp kortizolio koncentracijos, išmatuotos skirtingose tiriamųjų organizmo terpėse: plaukuose, seilėse ir kraujo serume.

4.1. Kortizolio koncentracija plaukuose ir amžius

Vyresnis amžius yra priskiriamas nekontroliuojamų aterosklerozės rizikos veiksnių grupei. Žinoma, jog vyrams rizika sirgti aterosklerozė didėja nuo 45 metų. Šiame darbe tiriamieji buvo suskirstyti į dvi grupes: jaunas (25–39 metai) ir vidutinio amžiaus (40–55 metai) vyrus.

Rezultatai rodo statistiškai reikšmingą kortizolio koncentracijos plaukuose skirtumą tarp minėtų amžiaus grupių (26,632 ng/g vs 72,265 ng/g, $p < 0,001$) bei silpną ($r = 0,254$), tačiau statistiškai reikšmingą ryšį ($p = 0,001$) tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų amžiaus.

Atlikta nemažai kitų tyrimų, vertinančių kortizolio koncentracijos plaukuose ir amžiaus ryšį. J.G.Abell ir bendraautorai [39] atliko kohortinį tyrimą, kurio metu tirti 3675 Didžiojoje Britanijoje gyvenančių valstybės tarnautojų, kurių amžius 59–85 metai, plaukų mėginiai. Tyrimo metu statistiškai reikšmingų skirtumų tarp trijų amžiaus grupių (59–64 m., 65–74 m., 75–85 m.) nenustatyta. Tokius rezultatus autoriai aiškina galimai per siauru tiriamųjų amžiaus intervalu. S. Feller su kolegomis [42] tyrė 654 vidutinio ir vyresnio amžiaus (47–82 m.) asmenų kortizolio koncentraciją plaukuose ir naudodami tiesinės regresijos modelį nustatė statistiškai reikšmingą priklausomybę tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų amžiaus ($\beta = 0,12$, $p = 0,04$). M. Staufenbiel ir bendraautorių [21] vykdyto tyrimo metu ištirta 760 psichikos ir elgesio sutrikimų neturinčių asmenų. Tiriamiesiems nustatytos kortizolio bei kortizono (biologiškai neaktyvi kortizolio forma) koncentracijos plaukuose. Vienalypės tiesinės regresinės analizės rezultatai parodė statistiškai reikšmingą priklausomybę tarp kortizolio bei kortizono koncentracijų plaukuose ir tiriamųjų amžiaus ($\beta = 0,189$, $p < 0,001$ ir $\beta = 0,264$, $p < 0,001$).

Taigi, tiek mūsų tyrimo, tiek daugelio kitų tyrėjų darbų rezultatai rodo reikšmingą sąsają tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir amžiaus. Svarbu pažymėti ir tai, kad mūsų tiriamųjų imtį sudarė jauni ir vidutinio amžiaus vyrai, todėl gauti statistiškai reikšmingi rezultatai nėra susiję su senėjimo sąlygotais endokrininės sistemos pokyčiais.

4.2. Kortizolio koncentracija plaukuose ir antropometriniai rodikliai

Viršsvoris ir nutukimas yra vieni svarbiausių rizikos veiksnių, lemiančių širdies ir kraujagyslių sistemos ligų, cukrinio diabeto bei piktybinių susirgimų išsivystymą [65, 66]. Šiame darbe buvo įvertinti trys klinikinėje praktikoje dažniausiai naudojami tiriamųjų antropometriniai rodikliai: kūno svoris, KMI bei liemens apimtis. Atlikus statistinę analizę nustatyti silpni, tačiau statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų kūno svorio ($r = 0,208$, $p = 0,008$), KMI ($r = 0,217$, $p = 0,005$) bei liemens apimties ($r = 0,211$, $p = 0,007$) verčių. Taip pat nustatėme, jog suskirsčius tiriamuosius į keturias grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose statistiškai reikšmingai skiriasi pacientų KMI medianų vertės lyginant 1-ąją ir 4-ąją (23,96 kg/m² vs 26,12 kg/m², $p = 0,010$) bei 2-ąją ir 4-ąją (24,44 kg/m² vs 26,12 kg/m², $p = 0,035$) grupes. Suskirsčius tiriamuosius į minėtas keturias kortizolio koncentracijos plaukuose grupes ir lyginant liemens apimties medianų vertes tarp grupių, nustatyti statistiškai reikšmingi skirtumai tarp 1-osios ir 4-osios (85 cm vs 96 cm, $p = 0,015$), 2-osios ir 4-osios (88 cm vs 96 cm, $p = 0,048$) bei 1-osios ir 3-iosios (85 cm vs 91,5 cm,

$p = 0,043$) grupių.

Panašūs rezultatai publikuoti ir kitų tyrėjų darbuose. S. E. Jackson su bendraautoriais [65] 2017 metais atliko vienmomentį tyrimą, kurio metu tiriant 2527 asmenis (54–87 metų amžiaus) nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų kūno svorio ($r = 0,102$, $p < 0,001$), KMI ($r = 0,101$, $p < 0,001$) bei liemens apimties ($r = 0,082$, $p < 0,001$). Taip pat buvo tirtas ir kortizolio koncentracijos plaukuose pasiskirstymas tarp dviejų tiriamųjų grupių, sudarytų pagal liemens apimties dydį. Pacientams, kurių liemens apimties vertė rodo centrinio tipo nutukimą (≥ 102 cm), būdingas statistiškai reikšmingai didesnis kortizolio koncentracijos plaukuose vidurkis nei tiriamiesiems, kurių liemens apimties dydis yra rekomenduojamose normos ribose (vidurkio lg 0,941 vs 0,883, $p = 0,027$). T.Stalder su kolegomis [66] atliktų dviejų nepriklausomų tyrimų metu nustatyti silpni ir vidutinio stiprumo statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų kūno svorio ($r = 0,29$, $p < 0,001$ ir $r = 0,36$, $p = 0,005$) bei KMI ($r = 0,33$, $p < 0,0001$ ir $r = 0,42$, $p = 0,001$).

Kai kurie tyrėjai kaip papildomą antropometrinių rodiklių naudojo liemens-klubų apimčių santykį. L. Manenschijn ir bendraautorių [67] atlikti tyrimai parodė statistiškai reikšmingą sąsają tarp sveikų asmenų kortizolio koncentracijos plaukuose ir liemens apimties ($r = 0,392$, $p = 0,007$) bei liemens-klubų apimčių santykio ($r = 0,425$, $p = 0,003$) verčių, tačiau statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų KMI nenustatytas ($p = 0,646$). S. Feller su kolegomis [42] ištyrė 654 asmenų kortizolio koncentraciją plaukuose ir pritaikė tiesinės regresijos modelį taip pat nustatė statistiškai reikšmingą priklausomybę tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų liemens apimties ($\beta = 0,13$, $p = 0,001$) bei liemens-klubų apimčių santykio ($\beta = 0,15$, $p < 0,0001$). Daugelio minėtų tyrimų [42, 65, 67] rezultatai puikiai atspindi kortizolio biologinį poveikį, kuris pasireiškia centrinio tipo nutukimu.

A.C.I. Rodriguez su kolegomis [43] 2015 metais publikuotoje sisteminėje literatūros apžvalgoje aprašytas stiprus ryšys tarp centrinio tipo nutukimo ir padidėjusios 11 β -HSD1 raiškos adipocituose bei sumažėjusios šio fermento raiškos hepatocituose. Manoma, jog susilpnėjusi kortizolio regeneracija iš kortizono kepenyse lemia kompensacinio mechanizmo aktyvaciją – padidėjusią kortizolio sekreciją antinksčiuose. Liemens apimties bei liemens-klubų apimčių santykio padidėjimas rodo suintensyvėjusį visceralinių riebalų kaupimąsi ir dėl to išsivystantį centrinio tipo nutukimą. KMI įvertinimas neleidžia diferencijuoti skirtingų nutukimo tipų, todėl šio rodiklio svarba, vertinant riziką sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis, yra diskutuotina [42, 67, 68].

Atsižvelgiant į mūsų tyrime gautus rezultatus ir remiantis kitų autorių atliktų darbų duomenimis, galima teigti, kad padidėjusi kortizolio koncentracija plaukuose yra susijusi su didesnėmis pagrindinių antropometrinių rodiklių vertėmis. Tokie rezultatai galėtų būti naudingi

tolimesnių mokslinių tyrimų raidai ieškant naujų nutukimo gydymo galimybių.

4.3. Kortizolio koncentracija plaukuose ir arterinis kraujo spaudimas bei širdies susitraukimų dažnis

Hipertenzija – vienas iš tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių, kurio poveikis lemia padidėjusį hemodinaminį spaudimą ir pasireiškia endotelio pažeidimu [5]. Šiame darbe nustatyti statistiškai reikšmingi ryšiai tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir vidutinio arterinio kraujo spaudimo ($r = 0,359$, $p < 0,001$), sistolinio ($r = 0,339$, $p < 0,001$) bei diastolinio ($r = 0,320$, $p < 0,001$) kraujo spaudimo. Statistiškai reikšmingų sąsajų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir širdies susitraukimų dažnio nustatyti nepavyko ($p = 0,242$). Taip pat nustatėme, jog suskirsčius tiriamuosius į dvi grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose ($\leq 46,182$ ng/g ir $> 46,182$ ng/g) statistiškai reikšmingai skiriasi pacientų vidutinio arterinio kraujo spaudimo bei sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo medianų vertės (89,3 vs 96,3 mmHg, 123,5 mmHg vs 132 mmHg ir 73 mmHg vs 80 mmHg, $p < 0,001$).

Atlikta nemažai tyrimų, kuriuose tiriant sveikus bei širdies ir kraujagyslių ligomis sergančius pacientus, analizuotas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir arterinio kraujo spaudimo. J.O. Younge su kolegomis [69] tyrė kortizolio koncentraciją plaukuose pacientams, sergantiems struktūrinėmis širdies ligomis, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų sistolinio ($p = 0,144$) ir diastolinio ($p = 0,129$) kraujo spaudimo bei širdies susitraukimų dažnio ($p = 0,105$) nenustatė. M. Saleem ir bendraautorių [70] vykdyto tyrimo metu kortizolio koncentracija plaukuose nustatyta 56 pacientams, sergantiems koronarine širdies liga. Tiriamieji buvo suskirstyti į dvi grupes pagal kortizolio koncentracijos plaukuose pamatinį biologinių verčių intervalą (normali kortizolio koncentracija – 17,7–153,1 ng/g; didelė kortizolio koncentracija – $\geq 153,2$ ng/g), nustatyta B.Sauve ir bendraautorių [71], kurie kortizolio koncentracijos plaukuose ekstrakcijai naudojo metanolį, o kiekybiniam analitės nustatymui – IFA metodą. Tyrėjai, vertindami tiriamųjų sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo rodiklius bei širdies susitraukimų dažnio vertes, statistiškai reikšmingų skirtumų tarp grupių nenustatė ($p = 0,90$, $p = 0,18$ ir $p = 0,55$). S. Feller ir bendraautorių [42] sudarytas vienalytės tiesinės regresijos modelis parodė statistiškai reikšmingą atvirkštinę priklausomybę tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir diastolinio kraujo spaudimo ($\beta = -0,09$, $p = 0,03$).

Kitokius rezultatus gavo T. Stalder ir bendraautoriai [72], tyrė 1258 asmenis (84,8 % vyrų, 16–64 metų amžiaus), dirbančius aviacijos kompanijoje Vokietijoje. Autoriai nustatė statistiškai reikšmingą ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir vidutinio arterinio kraujo spaudimo ($r = 0,106$, $p < 0,001$). Pastarasis rodiklis svarbus tuo, kad atspindi informaciją, gaunamą kartu

nagrinėjant SKS ir DKS rodiklius. K. M. O'Brien su kolegomis [73] tirdami 135 asmenų, dirbančių ar besimokančių Masačusetso universitete, kortizolio koncentraciją plaukuose nustatė statistiškai reikšmingą ryšį tarp minėto hormono koncentracijos ir tiriamųjų sistolinio kraujo spaudimo ($r = 0,25$, $p < 0,01$).

Mūsų tyrimo bei kai kurių kitų autorių atliktų tyrimų [72, 73] rezultatai patvirtina ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir padidėjusio arterinio kraujo spaudimo. Tokias sąsajas galima paaiškinti gerai išnagrinėtu biologiniu kortizolio poveikiu: hormonas, sąveikaudamas su mineralokortikoidų receptoriais simuliuoja aldosterono veikimą ir lemia kraujo plazmos tūrio padidėjimą. Tiek mūsų tyrimo, tiek kitų tyrėjų publikuotų straipsnių duomenimis statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir širdies susitraukimų dažnio nėra, nors literatūroje teigiama, jog padidėjęs širdies susitraukimų dažnis yra susijęs su blogesnėmis klinikinėmis išėtimis pacientams, kuriems diagnozuota hipertenzija, miokardo infarktas ar širdies nepakankamumas [74]. Svarbu pažymėti tai, kad mūsų tiriamųjų imtį sudarė sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys vyrai, kurių širdies susitraukimų dažnio skirtumus galimai lemia skirtingas treniruotumas.

4.4. Kortizolio koncentracija plaukuose ir lipidų apykaitos rodikliai

Lipidų apykaitos sutrikimai neabejotinai yra vieni svarbiausių veiksnių, lemiančių aterosklerozės ir jos komplikacijų (miokardo infarkto, insulto, periferinių arterijų ligos) išsivystymą [3, 5, 9]. Dislipidemija apibrėžiama kaip lipidų ir lipoproteinų apykaitos sutrikimai, pasireiškiantys padidėjusia bendrojo cholesterolio, labai mažo tankio ir mažo tankio lipoproteinų cholesterolio bei triacilglicerolių koncentracija ir sumažėjusia didelio tankio lipoproteinų cholesterolio koncentracija [2, 9, 49, 75]. Žinoma, jog endokrininės ligos (cukrinis diabetas, metabolinis sindromas, Kušingo sindromas, hipotiroidizmas, policistinių kiaušidžių sindromas) bei kai kurių vaistų (tiazidų, estrogenų, progestinų, gliukokortikoidų) vartojimas yra susiję su antrinės dislipidemijos išsivystymu [75]. Mūsų tyrime nustatyti statistiškai reikšmingi ryšiai tarp tiriamųjų kortizolio koncentracijos plaukuose ir B-ch ($r = 0,234$, $p = 0,003$) bei MTL-ch koncentracijų ($r = 0,230$, $p = 0,003$). Taip pat nustatėme, jog suskirsčius tiriamuosius į dvi grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose statistiškai reikšmingai skiriasi pacientų MTL-ch koncentracijų medianų vertės (3,03 vs 3,26 mmol/l, $p < 0,001$).

Analizuojant kitų autorių atliktų tyrimų rezultatus, apibendrinančių išvadų apie kortizolio koncentracijos plaukuose ir lipidų apykaitos rodiklių ryšį daryti negalima, nes rezultatai yra kontroversiški. T.Stalder su kolegomis 2013 metais publikuoti rezultatai [70] parodė, kad kortizolio koncentraciją plaukuose ir MTL-ch koncentraciją tiriamųjų kraujo serume sieja labai silpna, tačiau statistiškai reikšminga atvirkštinė priklausomybė ($r = - 0,080$, $p < 0,01$). Minėti

tyrėjai nagrinėjo ir kortizono koncentracijos plaukuose ryšį su DTL-ch, MTL-ch bei TAG koncentracijomis kraujo serume ir nustatė silpną statistiškai reikšmingą ryšį tarp kortizono koncentracijos plaukuose ir DTL-ch koncentracijos ($r = -0,059$, $p < 0,05$). L. K. Kuehl ir bendraautoriai [76] tyrė 85 sveikus ir depresija sergančius asmenis. Gauti rezultatai parodė, jog atsižvelgus į tiriamųjų lytį kortizolio ir kortizono koncentracijas plaukuose sieja silpni ir vidutinio stiprumo statistiškai reikšmingi ryšiai su TAG koncentracija pacientų kraujo serume ($r = 0,34$ ir $r = 0,46$, $p = 0,01$).

Mūsų tyrimo ir kitose šalyse vykdytų darbų rezultatai yra skirtingi, todėl siekiant objektyviau įvertinti sąsają tarp dislipidemijos ir kortizolio koncentracijos plaukuose, reikalingi papildomi, išsamesni tyrimai. Svarbu pažymėti tai, kad tiek mūsų, tiek kitų autorių atliktuose tyrimuose lipidų apykaitos įvertinimui nustatytos B-ch, MTL-ch, DTL-ch, TAG koncentracijos, tačiau neanalizuoti tokie rodikliai kaip ApoB, ApoAI ar Lp(a). Pastarųjų žymenų tyrimai galėtų būti naudingi siekiant detaliau išanalizuoti padidėjusios kortizolio sekrecijos įtaką lipidų apykaitos rodiklių pokyčiams.

4.5. Kortizolio koncentracija plaukuose ir CRB

Aterosklerozė – lėtinė uždegiminė liga, kurios patogenezėje svarbią vietą užima ne tik lipidų apykaitos sutrikimai, bet ir makrofagų, monocitų, T limfocitų bei dendritinių ląstelių inicijuojamas ir palaikomas uždegiminis procesas. Minėtų ląstelių išskiriami citokinai skatina CRB sintezę kepenyse, todėl padidėjusi šio ūmios fazės baltymo koncentracija kraujo serume yra susijusi didesne kardiovaskulinių įvykių rizika [2, 3, 5].

Šiame darbe statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir CRB koncentracijos kraujo serume nustatyti nepavyko ($r = 0,109$, $p = 0,171$). Suskirsčius tiriamuosius į grupes pagal kortizolio koncentraciją plaukuose statistiškai reikšmingų skirtumų tarp CRB koncentracijos medianų minėtose grupėse taip pat nenustatyta ($0,585$ vs $0,685$ mg/l, $p = 0,290$). Padidėjusi CRB koncentracija yra vienas iš lėtinio streso sukulto alostatinio krūvio biocheminių žymenų [28], tačiau tyrimų, kuriuose būtų vertintas ryšys tarp CRB koncentracijos kraujo serume ir kortizolio koncentracijos plaukuose, vis dar trūksta.

4.6. Kortizolio koncentracija plaukuose ir angliavandenių apykaitos rodikliai

Įvairių epidemiologinių tyrimų duomenimis cukriniu diabetu sergantiems pacientams būdinga reikšmingai didesnė aterosklerozės išsivystymo rizika. Pagrindinis cukrinio diabeto požymis yra hiperglikemija, todėl gliukozės koncentracijos padidėjimas kraujo plazmoje yra vienas iš kontroliuojamų aterosklerozės rizikos veiksnių [5–7, 77].

Mūsų tyrime statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir gliukozės koncentracijos kraujo plazmoje nenustatytas ($r = 0,143$, $p = 0,07$). Taip pat negavome statistiškai reikšmingų rezultatų lygindami gliukozės koncentracijų medianas tarp dviejų kortizolio koncentracijos plaukuose grupių (5,20 vs 5,28 mmol/l, $p = 0,149$). Panašūs rezultatai aprašyti ir kitų autorių publikuotuose straipsniuose. T.Stalder su kolegomis [68] vykdyto tyrimo metu statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir gliukozės koncentracijos tiriamųjų kraujo plazmoje nenustatyta, tačiau autoriai pastebėjo reikšmingas sąsajas tarp minėto steroidinio hormono koncentracijos plaukuose ir glikozilinto hemoglobino (HbA_{1c}) kiekio procentais ($r = 0,116$, $p < 0,01$). Tokie rezultatai nesunkiai interpretuojami atsižvelgiant į tai, jog HbA_{1c} ir kortizolio koncentracijos plaukuose tyrimai atspindi gliukozės ir kortizolio koncentracijų pokyčius 3 mėnesių laikotarpiu. Tuo tarpu gliukozės koncentracijos tyrimas kraujo plazmoje parodo momentinę gliukozės koncentraciją ir negali būti naudojamas vertinant ilgalaikę organizmo būklę.

J.G. Abell ir bendraautorių [39] atliktuose tyrimuose nustatyta, jog pacientams, sergantiems 2 tipo cukriniu diabetu, būdingos statistiškai reikšmingai ($p = 0,007$) didesnės kortizolio koncentracijos plaukuose vertės lyginant su sveikais tiriamaisiais. S.Feller su kolegomis [42] sudarę vienalypės tiesinės regresijos modelį taip pat nustatė statistiškai reikšmingas sąsajas tarp 2 tipo cukrinio diabeto ir kortizolio koncentracijos plaukuose ($\beta = 0,11$, $p = 0,004$). Mūsų tyrime dalyvavo sveiki, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergantys vyrai, todėl išvadų apie kortizolio koncentracijos plaukuose ryšį su angliavandenių apykaitos sutrikimais, daryti negalime.

4.7. Kortizolio koncentracija plaukuose ir rūkymas

Rūkymas – šiuo metu itin aktuali problema, susijusi su padidėjusia aterosklerozės rizika. Žinoma, jog tabako rūkymas sukelia oksidacinį stresą, indukuoja uždegiminiuosius procesus kraujagyslėse bei skatina trombocitų agregaciją [5, 78]. Šiame darbe statistiškai reikšmingo ryšio tarp rūkymo įpročių šiuo metu ar anksčiau ir kortizolio koncentracijos plaukuose nenustatėme ($r = 0,126$, $p = 0,113$ ir $r = 0,009$, $p = 0,911$). Analizuojant skirtumus tarp kortizolio koncentracijos plaukuose grupių ir tiriamųjų rūkymo įpročių šiuo metu ar praeityje statistiškai reikšmingų rezultatų nustatyti taip pat nepavyko ($p = 0,113$ ir $p = 0,912$).

Kitų autorių tyrimų, kuriuose vertintas rūkymo ir kortizolio koncentracijos plaukuose ryšys, rezultatai yra skirtingi. S.Feller ir bendraautorių [42] tyrime taikant vienalypės regresinės analizės modelį parodytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir rūkymo šiuo metu ($\beta = 0,09$, $p = 0,03$), tačiau tyrėjai nenustatė sąsajos tarp rūkymo anksčiau ir kortizolio koncentracijos plaukuose ($\beta = 0,04$, $p = 0,37$). T.Stalder su kolegomis [66] vykdytu

tyrimų duomenimis kortizolio ir kortizono koncentracijų plaukuose vertės nėra statistiškai reikšmingai ($p > 0,05$) susijusios su tiriamųjų rūkymo įpročiais. Mūsų tyrime statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų rūkymo įpročių galimai nenustatytas ir dėl gerokai didesnio šiuo metu nerūkančių asmenų skaičiaus lyginant su rūkančiais tyrimo dalyviais (132 vs 27 tiriamieji).

4.8. Kortizolio koncentracija plaukuose ir fizinis aktyvumas

Populiacinių tyrimų duomenimis aktyvus gyvenimo būdas yra susijęs su mažesniais mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų rodikliais. Nustatyta, jog mažu fiziniu aktyvumu pasižymintys asmenys turi du kartus didesnę riziką sirgti koronarine širdies liga lyginant su žmonėmis, propaguojančiais aktyvų gyvenimo būdą [5, 79]. Šiame darbe statistiškai reikšmingo ryšio tarp tiriamųjų fizinio aktyvumo darbe ar laisvalaikiu ir kortizolio koncentracijos plaukuose nenustatėme ($r = -0,021$, $p = 0,792$ ir $r = -0,075$, $p = 0,348$). Lyginant kortizolio koncentracijos plaukuose medianas tarp skirtingu fiziniu aktyvumu darbe ir laisvalaikiu pasižyminčių tiriamųjų, statistiškai reikšmingų skirtumų nustatyti taip pat nepavyko ($p = 0,774$ ir $p = 0,587$).

E. Ullmann ir bendraautorių [80] vykdyto pilotinio tyrimo metu ištirta 40 sveikų studentų kortizolio koncentracija plaukuose ir pagal fizinės veiklos dažnį per savaitę įvertintas tiriamųjų fizinis aktyvumas. Tyrimo metu nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tyrimo dalyvių fizinio aktyvumo ($r = 0,423$, $p = 0,007$). S. Feller su kolegomis [42] tiriamųjų bendrą fizinio aktyvumo lygį vertino atsižvelgdami į tyrimo dalyvių subjektyviai įvertintą aktyvumą darbe ir laisvalaikiu, tačiau statistiškai reikšmingo ryšio tarp fizinės veiklos intensyvumo ir kortizolio koncentracijos plaukuose nenustatė ($\beta = 0,001$, $p = 0,83$). Tuo tarpu M.Gerber su kolegomis [81] išsamiau išnagrinėjo sąsajas tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir fizinio aktyvumo. Šių tyrėjų vykdyto tyrimo metu kortizolio koncentracija plaukuose nustatyta 46 Bazelio universitete studijuojantiems studentams, kurių fizinis aktyvumas įvertintas naudojantis kūno judesius registruojančiu akselerometru. Minėti autoriai nustatė statistiškai reikšmingą ryšį tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir laiko (min/per savaitę), kurį tyrimo dalyviai skiria intensyviai fizinei veiklai ($r = 0,34$, $p < 0,05$).

Įvairius mūsų ir kitose šalyse vykdytų tyrimų rezultatus galima paaiškinti tuo, kad naudoti skirtingi (objektyvūs ir subjektyvūs) fizinį aktyvumą įvertinantys metodai. Svarbu paminėti ir tai, kad dauguma mūsų tyrime dalyvavusių asmenų pasižymėjo aktyvia fizine veikla laisvalaikiu ir nedideliu fizinio aktyvumo lygiu darbe. Todėl siekiant objektyviau įvertinti fizinio aktyvumo sąsajas su kortizolio koncentracija plaukuose, reikalingas didesnis aukštu fiziniu aktyvumu darbe pasižyminčių asmenų bei pasyviai laisvalaikį leidžiančių tiriamųjų skaičius.

4.9. Kortizolio koncentracija plaukuose ir psichosocialinis stresas

Šiuo metu vertinant aterosklerozės išsivystymo riziką neapsiribojama vien tik tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių analize. Todėl vis didesnis dėmesys skiriamas genetinių veiksnių bei patiriamo lėtinio psichosocialinio streso įtakai [82]. Savo tyrime kaip lėtinio streso biologinį žymenį naudojome kortizolio koncentraciją plaukuose ir gautus rezultatus palyginome su tiriamųjų subjektyviai suvokiamo psichosocialinio streso lygiu, kurį tyrimo dalyviai įvertino užpildę psichosocialinio streso klausimyną. Šiame darbe vertintas ryšys tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir atskirų psichosocialinio streso klausimyno dalių, tačiau statistiškai reikšmingi ryšiai nustatyti tik tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų jaučiamos emocinės paramos ($r = 0,180$, $p = 0,023$) bei tyrimo dalyvių gebėjimo susidoroti su gyvenimiškais įvykiais ($r = 0,169$, $p = 0,032$). Svarbu pažymėti ir tai, kad suskirsčius tiriamuosius į dvi grupes pagal klausimyne surinktų taškų skaičių, nustatyta, jog tyrimo dalyviams, pasižymintiems geresniu gebėjimu susidoroti su gyvenimiškais įvykiais bei jaučiantiems stipresnę emocinę paramą būdingos statistiškai reikšmingai didesnės kortizolio koncentracijos plaukuose medianų vertės (35,226 ng/g vs 60,92 ng/g, $p = 0,03$ ir 35,748 ng/g vs 97,379 ng/g, $p = 0,003$). Tokie dviprasmiški rezultatai gali būti aiškinami mažu aukštą streso lygį patiriančių tiriamųjų skaičiumi.

E. Noser ir bendraautoriai [83] tyrė kortizolio koncentracijos plaukuose vidurkių skirtumus tarp trijų pagal išsekimo lygį subjektyviai suskirstytų tiriamųjų grupių, tačiau statistiškai reikšmingų skirtumų tyrėjai nenustatė. S.Feller su kolegomis [42] vykdytame tyrime tiriamųjų patiriamas stresas buvo įvertintas naudojantis Trier lėtinio streso testu. Pritaikę vienalypės tiesinės regresijos modelį statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir subjektyviai suvokiamo streso lygio, mokslininkai nenustatė ($\beta = -0,06$, $p = 0,16$). Taigi, mūsų tyrimo ir kitose šalyse vykdytų panašių tyrimų rezultatai rodo, jog tiriamųjų pildomi streso vertinimo klausimynų rezultatai nekoreliuoja su objektyviai išmatuojamų biocheminių rodiklių, tokių kaip kortizolio koncentracija plaukuose, vertėmis. Tokias tendencijas galima paaiškinti dvejopai: ribotomis klausimynų galimybėmis objektyviai įvertinti patiriamo streso lygį bei kitų, su stresu nesusijusių veiksnių, lemiančių kortizolio koncentracijos pokyčius organizme, įtaka. Vieni iš tokių literatūroje aprašomų veiksnių – polimorfizmai kortizolį sujungiantį baltymą transkortiną bei $\alpha 1$ -antitripsiną koduojančiuose genuose (atitinkamai *SERPINA6* ir *SERPINA1*). Plataus masto genomo asociacijos tyrimų duomenimis polimorfizmai minėtuose genuose yra susiję su pakitusia transkortino geba prisijungti ar atpalaiduoti kortizolį. Tokie pokyčiai lemia laisvo, biologiškai aktyvaus kortizolio koncentracijos padidėjimą arba sumažėjimą [84]. Todėl tolimesnių tyrimų objektas galėtų būti kortizolio koncentracijos pokyčius lemiančių, tačiau su

atsaku į stresą nesusijusių veiksnių paieška.

4.10. Kortizolio koncentracija plaukuose, seilėse ir kraujo serume

Šiame darbe nagrinėti ryšiai tarp kortizolio koncentracijos, išmatuotos tiriamųjų plaukų, seilių bei kraujo serumo mėginiuose. Statistiškai reikšmingų sąsajų tarp kortizolio koncentracijos verčių trijose minėtose organizmo terpėse nenustatėme. B. Sauve su kolegomis [73] tyrė 39 asmenų kortizolio koncentraciją plaukuose, kraujo serume bei seilėse. Tyrėjai nustatė statistiškai reikšmingą ryšį tarp kortizolio koncentracijos seilėse ir kraujo serume ($r = 0,58$, $p = 0,0016$), tačiau statistiškai reikšmingų sąsajų tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir kraujo serume ar seilėse mokslininkams nustatyti nepavyko ($r = 0,064$, $p = 0,695$ ir $r = 0,306$, $p = 0,119$). Tokius rezultatus nesudėtinga paaiškinti atsižvelgiant į tai, jog tiek seilėse, tiek kraujo serume išmatuota kortizolio koncentracija atspindi momentinį PHA ašies aktyvumą, o kortizolio koncentracija plaukuose rodo ilgalaikio PHA (1–9 mėnesių laikotarpiu, priklausomai nuo tyrimui pasirinkto plaukų ilgio) ašies aktyvumo pokyčius. Mūsų tyrime statistiškai reikšmingas ryšys tarp kortizolio koncentracijos seilėse ir kraujo serume nenustatytas, nes minėti tiriamųjų mėginiai buvo paimti ne vienu metu: seilių mėginiai buvo surinkti ryte, iš karto po pabudimo, o kraujo serumo mėginiai paimti tiriamiesiems atvykus į Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centrą.

4.11. Apibendrinimas

Šiame darbe nagrinėtos sąsajos tarp lėtinio streso žymens kortizolio koncentracijos plaukuose ir tradicinių aterosklerozės rizikos veiksnių. Tyrimo rezultatai rodo, jog kortizolio koncentracija plaukuose yra susijusi su pagrindiniais širdies ir kraujagyslių ligų rizikos veiksniais, tokiais kaip vyresnis amžius, centrinio tipo nutukimas, hipertenzija ir dislipidemija. Analizuodami ryšius tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir tiriamųjų subjektyviai suvokiamo psichosocialinio streso lygio, gavome kontroversiškus rezultatus. Todėl tolimesnių mokslinių tyrimų metu būtina tirti kitų, mažiau išnagrinėtų ir su atsaku į stresą nesusijusių veiksnių (tiriamųjų amžiaus, etninės grupės, plaukų spalvos ir augimo greičio, genetinių veiksnių) įtaką kortizolio koncentracijos plaukuose pokyčiams. Šiame darbe statistiškai reikšmingų ryšių tarp kortizolio koncentracijos, išmatuotos tiriamųjų plaukuose, seilėse ir kraujo serume, nenustatėme. Todėl galime teigti, jog kortizolio koncentracijos plaukuose tyrimas suteikia papildomos informacijos apie antinksčių steroidinio hormono kortizolio sekreciją ir yra svarbus ilgalaikio pogumburio-hipofizės-antinksčių ašies aktyvumo stebėsenai.

IŠVADOS

1. Sveikų, ūminėmis ir lėtinėmis ligomis nesergančių jaunų (25–39 m.) ir vidutinio amžiaus (40–55 m.) vyrų kortizolio koncentracijos plaukuose mediana – 46,182 ng/g. Kortizolio koncentracija plaukuose statistiškai reikšmingai susijusi su tiriamųjų amžiumi ($r = 0,254$, $p = 0,001$).
2. Kortizolio koncentracija plaukuose statistiškai reikšmingai susijusi su tiriamųjų kūno svoriu ($r = 0,208$, $p = 0,008$), kūno masės indeksu ($r = 0,217$, $p = 0,005$), liemens apimtimi ($r = 0,211$, $p = 0,007$), sistoliniu ir diastoliniu kraujo spaudimu ($r = 0,339$ ir $r = 0,320$, $p < 0,001$) bei vidutiniu arteriniu kraujo spaudimu ($r = 0,359$, $p < 0,001$), tačiau statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir širdies susitraukimų dažnio nėra.
3. Kortizolio koncentracija plaukuose statistiškai reikšmingai susijusi su bendrojo cholesterolio ir MTL cholesterolio koncentracijomis ($r = 0,234$ ir $r = 0,230$, $p = 0,003$), tačiau statistiškai reikšmingo ryšio tarp kortizolio koncentracijos plaukuose ir triacilglicerolių, DTL cholesterolio, gliukozės bei C reaktyvaus baltymo koncentracijų kraujyje nėra.
4. Kortizolio koncentracija plaukuose nėra statistiškai reikšmingai susijusi su tiriamųjų rūkymo įpročiais ir fizinio aktyvumo lygiu.
5. Kortizolio koncentracija plaukuose statistiškai reikšmingai susijusi su tiriamųjų jaučiama emocija parama bei gebėjimu susidoroti su gyvenimiškais įvykiais ($r = 0,180$, $p = 0,023$ ir $r = 0,169$, $p = 0,032$). Statistiškai reikšmingų ryšių tarp kortizolio koncentracijos, išmatuotos tiriamųjų seilių, kraujo serumo ir plaukų mėginiuose, nėra.

SUMMARY

Background. Chronic stress induced excessive cortisol secretion is hypothesized to contribute to the development of metabolic and cardiovascular diseases. Measurement of cortisol concentration in saliva, serum and urine provides information about its production of a period up to 24 h. However, long-term integrated hormone secretion can be assessed by measuring cortisol concentration in scalp hair.

The aim of the study was to investigate the association between hair cortisol concentration (HCC) and atherosclerosis risk factors.

Objectives: to measure cortisol concentration in hair samples of healthy Lithuanian men; to evaluate the relationship between hair cortisol concentration and age, different anthropometric measurements, heart rate and arterial blood pressure values; to estimate the association between hair cortisol concentration and biochemical markers of lipid and carbohydrate metabolism, as well as inflammatory marker C-reactive protein; to assess the link between hair cortisol concentration and self-reported smoking habits and physical activity; to determine the association between hair cortisol concentration and subjectively perceived level of psychosocial stress; to evaluate the intercorrelations of cortisol levels in hair, saliva and blood serum.

Materials and methods. Hair samples of 163 healthy men (aged 25–55 years) participating in the ATEROSTRES study were collected. HCC was measured in the proximal 3 cm of scalp hair, using high performance liquid chromatography with UV/Vis detection. Anthropometric, lifestyle parameters, lipid profile, glucose, CRP, serum and salivary cortisol levels were also assessed.

Results. HCC was positively correlated with age ($r = 0.254$, $p = 0.001$), weight ($r = 0.208$, $p = 0.008$), BMI ($r = 0.217$, $p = 0.005$), waist circumference ($r = 0.211$, $p = 0.007$), mean arterial pressure ($r = 0.359$, $p < 0.001$), systolic and diastolic blood pressure ($r = 0.339$, $p < 0.001$ and $r = 0.320$, $p < 0.001$, respectively). Hair cortisol levels were also positively associated with total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations ($r = 0.234$, $p = 0.003$ and $r = 0.230$, $p = 0.003$, respectively) in blood serum. No correlations were found between hair cortisol levels and glucose, hs-CRP, HDL-cholesterol, triglycerides concentrations in the blood, smoking status or physical activity. No statistically significant cortisol concentration intercorrelations in different biological samples (i.e. hair, saliva, blood serum) were found. Additionally, hair cortisol concentration was associated with two components of psychosocial stress such as coping and emotional support ($r = 0.169$, $p = 0.032$ and $r = 0.180$, $p = 0.023$, respectively).

Conclusions. Results indicate that higher hair cortisol concentration, suggested as a marker of chronic stress, might be associated with the major cardiovascular risk factors such as older age, abdominal obesity, hypertension and dyslipidemia. The relationship between hair cortisol concentration and subjectively perceived level of psychosocial stress still needs to be investigated in future studies.

Keywords: hair cortisol concentration, cardiovascular risk factors, chronic stress.

NAUDOTI INFORMACIJOS ŠALTINIAI

1. Burokienė N, Domarkienė I, Ambrozaitytė L, Uktverytė I, Meškienė R, Karčiauskaitė D, et al. Classical rather than genetic risk factors account for high cardiovascular disease prevalence in Lithuania: A cross-sectional population study. *Adv Med Sci.* 2017; 62: 121–8.
2. Montrimaitė M, Kučinskienė ZA. Lipidų ir lipoproteinų tyrimai vertinant širdies ir kraujagyslių ligų riziką. *Laboratorinė medicina* 2015; 3(67): 137–42.
3. Karčiauskaitė D. Ankstyvosios aterosklerozės patogenezė ir laboratorinė diagnostika. *Laboratorinė medicina* 2015; 1(65): 25–9.
4. Dang VT, Werstuck GH. Metabolomics-Based Biomarkers of the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Biomark J* 2016; 2(18): 1–6.
5. Kopaei MR, Setorki M, Douudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *Int J Prev Med* 2014; 5(8): 927–46.
6. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell* 2011; 145(3): 341–355.
7. Steptoe A, Kivim M. Stress and Cardiovascular Disease: An Update on Current Knowledge. *Int Angiol* 2015; 66(1): 5–7.
8. Ekroos K, Jänis M, Tarasov K. Lipidomics: A Tool for Studies of Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2010; 12: 273–81.
9. Coj A, Kučinskienė ZA. Tradiciniai aterosklerozės žymenys lietuvių populiacijoje. *Laboratorinė medicina* 2013; 1(57): 29–39.
10. Banys V. Aterosklerozės ir metabolinio sindromo patogenezės ypatumai vertinant naujus trombocitų ir uždegimo žymenys: Daktaro disertacija. *Biomedicinos mokslai, medicina 07B.* Vilnius; 2015.
11. Inoue N. Stress and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *J Atheroscler Thromb* 2014; 21(5): 391–401.
12. Laima S, Fomin D, Jasulaitis A, Bareikytė A, Banionis D, Andriuškevičiūtė G, Chmieliauskas S. Psichologinės ir somatinės streso išraiškos, jų paplitimas. *Laboratorinė medicina* 2015; 3(67): 110–3.
13. Tian R, Hou G, Li D, Yuan TA. Possible Change Process of Inflammatory Cytokines in the Prolonged Chronic Stress and Its Ultimate Implications for Health. *Scientific World Journal* 2014: 1–8.
14. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids. *Rheum Dis Clin N Am* 2016; 42: 15–31.
15. Wosu AC, Valdimarsdóttir U, Shields AE, Williams DR, Williams MA. Correlates of cortisol in human hair: implications for epidemiologic studies on health effects of chronic stress.

Ann Epidemiol 2013; 23(12): 797–811.

16. Staufenbiel SM. Long-Term Cortisol Exposure in Stress-Related Diseases: Doktoro disertacija. Roterdamas; 2016.

17. Wester VL, van Rossum EFC. Clinical applications of cortisol measurements in hair. Eur J Endocrinol 2015; 4(173): 1-10.

18. Gidlow CJ, Randall J, Gillman J, Silk S, Jones MV. Hair cortisol and self-reported stress in healthy, working adults. 2016; 44: 163–9.

19. Praškevičius A, Ivanovienė L, Gailys R. Homeostazės reguliacijos ir jos sutrikimų biochemija: Bendrasis vadovėlis. Kaunas: Kauno medicinos universiteto leidykla, 2010. 775 p.

20. Staufenbiel SM, Penninx BWJH, Spijker AT, Elzinga M, van Rossum EFC. Hair cortisol, stress exposure, and mental health in humans: A systematic review. Psychoneuroendocrinology 2013; 38(8): 1220–35.

21. Staufenbiel SM, Penninx BWJH, de Rijke YB, van den Akker ELT, van Rossum EFC. Determinants of hair cortisol and hair cortisone concentrations in adults. Psychoneuroendocrinology 2015; 60: 182–94.

22. Ghiadoni L, Bruno RM. The Endothelium as a Target for Chronic Stress. Am J Hypertens 2016; 30(1): 19–20.

23. Giannoglou GD, Koskinas KC. Mental Stress and Cardiovascular Disease: Growing Evidence into the Complex Interrelation Between Mind and Heart. Int Angiol 2015; 66(1): 5–7.

24. Virtanen M, Heikkilä K, Jokela M, Ferrie JE, Batty GD. Long Working Hours and Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Am J Epidemiol 2012; 176(12): 586–96.

25. Power C, Hyppönen E, Smith GD. Socioeconomic Position in Childhood and Early Adult Life and Risk of Mortality: A Prospective Study of the Mothers of the 1958 British Birth Cohort. Am J Public Health 2005; 95(8):1396–402.

26. Iso H, Date C, Yamamoto A, Toyoshima H, Tanabe N, Kikuchi S, et al. Perceived Mental Stress and Mortality From Cardiovascular Disease Among Japanese Men and Women. The Japan Collaborative Cohort Study for Evaluation of Cancer Risk 2002; 106: 1229–36.

27. Kershaw KN, Lane-Cordova AD, Carnethon MR, Tindle HA, Liu K. Chronic Stress and Endothelial Dysfunction: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Am J Hyperten 2017; 30(1): 75–80.

28. Russell EW. Methodological Challenges and Clinical Applications of Hair Cortisol Analysis: Doktoro disertacija. Londonas; 2012.

29. Gao W, Kirschbaum C, Grass J, Stalder T. LC-MS based analysis of endogenous steroid hormones in human hair. J Steroid Biochem Mol Biol 2016; 162: 92–9.

30. Lee E. Review of the Psychometric Evidence of the Perceived Stress Scale. *Asian Nurs Res* 2012; 6(4): 121–7.
31. Wells S, Tremblay PF, Flynn A, Russell E, Kennedy J, Rehm J, et al. Associations of hair cortisol concentration with self-reported measures of stress and mental health-related factors in a pooled database of diverse community samples. *STRESS* 2014; 3890(4): 334–42.
32. Petrowski K, Paul S, Albani C, Brähler E. Factor structure and psychometric properties of the trier inventory for chronic stress (TICS) in a representative german sample. *BMC Med Res Methodol* 2012; 12(42): 1-10.
33. Kadziauskas J. *Biochemijos pagrindai*. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 2012. 647 p.
34. Miller WL. Steroid hormone synthesis in mitochondria. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 379(1-2): 62–73.
35. Payne AH, Hales DB. Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocr Rev* 2004; 25(6): 947–70.
36. Lisurek M, Bernhardt R. Modulation of aldosterone and cortisol synthesis on the molecular level. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 149–59.
37. Kučinskienė ZA. *Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai*. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 2008. 409 p.
38. Michael AE, Thurston LM, Rae MT. Glucocorticoid metabolism and reproduction: a tale of two enzymes. *Soc Reprod Fertil* 2003; 126: 425–41.
39. Abell JG, Stalder T, Ferrie JE, Shipley MJ, Kirschbaum C, Kivimäki M, et al. Assessing cortisol from hair samples in a large observational cohort: The Whitehall II study. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 73: 148–56.
40. Manenschijn L, Schaap L, van Schoor NM, van der Pas S, Peeters GM, Lips P, et al. High Long-Term Cortisol Levels, Measured in Scalp Hair, Are Associated With a History of Cardiovascular Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 2078–83.
41. Iglesias S, Jacobsen D, Gonzalez D, Azzara S, Repetto EM, Jamaro J, et al. Hair cortisol : A new tool for evaluating stress in programs of stress management. *Life Sci* 2015; 141: 188–92.
42. Feller S, Vigl M, Bergmann MM, Boeing H, Kirschbaum C, Stalder T. Predictors of hair cortisol concentrations in older adults. *Psychoneuroendocrinology* 2014; 39: 132–40.
43. Incollingo Rodriguez AC, Epel ES, White ML, Standen EC, Seckl JR, Tomiyama AJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and cortisol activity in obesity: A systematic review. *Psychoneuroendocrinology* 2015; 62: 301–18.
44. Meyer JS, Novak MA. Minireview: Hair Cortisol: A Novel Biomarker of Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Activity. 2012; 153: 4120–7.
45. Gao W, Stalder T, Foley P, Rauh M, Deng H, Kirschbaum C. Quantitative analysis of steroid

- hormones in human hair using a column-switching LC – APCI – MS/MS assay. *J Chromatogr B* 2013; 928: 1–8.
46. Albar WF, Russell EW. Human hair cortisol analysis: Comparison of the internationally-reported ELISA methods. *Clin Invest Med* 2013; 36(6): 312–6.
47. El-Farhan N, Rees D, Evans C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? *Ann Clin Biochem* 2017; 54(3): 308–22.
48. Kėvelaitis E, Miliuskas R, Illert M, Abraitis R, Cibas P, Mályusz M, Stasiulis A, Hultborn H, Lažauskas R, Skurvydas A, Gutmanas A, Gronow G, Kümmel, Wiese H. *Žmogaus fiziologija*. Kaunas: KMU leidykla, 2006. 634 p.
49. Arnaldi G, Scandali VM, Trementino L, Cardinaletti M, Appolloni G, Boscaro M. Pathophysiology of Dyslipidemia in Cushing’s Syndrome. *Neuroendocrinology* 2010; 92(1): 86–90.
50. van Rossum EFC. Obesity and Cortisol : New Perspectives on an Old Theme. *Obesity* 2017; 25(3): 500–1.
51. Geer EB. *The Hypothalamic – Pituitary – Adrenal Axis in Health and Disease*. New York: Springer; 2017.
52. Walker BR. Glucocorticoids and Cardiovascular Disease. 2007; 157: 545–59.
53. Cicala MV, Franco C. Hypertension in Cushing’s Syndrome: From Pathogenesis to Treatment. *Neuroendocr* 2010; 92(1): 44–9.
54. Goodwin JE, Geller DS. Glucocorticoid-induced hypertension. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 1059–66.
55. Baid S, Nieman LK. Glucocorticoid Excess and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2004; 6: 493–9.
56. Steptoe A, Ussher M. Smoking, cortisol and nicotine. *Int J Psychophysiol* 2006; 59: 228–35.
57. Yildiz D. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicon* 2004; 43: 619–32.
58. Richards JM, Stipelman BA, Bornovalova MA, Daughters SB, Sinha R, Lejuez CW. Biological mechanisms underlying the relationship between stress and smoking: State of the science and directions for future work. *Biol Psychol* 2011; 88(1): 1–12.
59. Rohleder N, Kirschbaum C. The hypothalamic – pituitary – adrenal (HPA) axis in habitual smokers. *Int J Psychophysiol* 2006; 59: 236–43.
60. Tweed JO, Hsia SH, Lutfy K, Friedman TC. The endocrine effects of nicotine and cigarette smoke. *Cell* 2012; 23(7).
61. Badrick E, Kirschbaum C, Kumari M. The relationship between smoking status and cortisol

- secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(3): 819–24.
62. Raul JS, Cirimele V, Ludes B, Kintz P. Detection of physiological concentrations of cortisol and cortisone in human hair. 2004; 37: 1105–11.
63. de Palo EF, Antonelli G, Benetazzo A, Prearo M, Gatti R. Human saliva cortisone and cortisol simultaneous analysis using reverse phase HPLC technique. *Clin Chim Acta* 2009; 405: 60–5.
64. 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.
65. Jackson SE, Kirschbaum C, Steptoe A. Hair Cortisol and Adiposity in a Population-Based Sample of 2,527 Men and Women Aged 54 to 87 Years. *Obesity.* 2017; 25(3): 539–44.
66. Stalder T, Steudte S, Alexander N, Miller R, Gao W, Dettenborn L, et al. Cortisol in hair, body mass index and stress-related measures. *Biol Psychol.* 2012; 90(3): 218–23.
67. Manenschijn L, Koper JW, Lamberts SWJ, van Rossum EFC. Evaluation of a method to measure long term cortisol levels. *Steroids.* 2011; 76: 1032–36.
68. Wester VL, Staufenbiel SM, Veldhorst MAB, Visser JA, Manenschijn L, Koper JW, et al. Long-Term Cortisol Levels Measured in Scalp Hair of Obese Patients. 2014; 22(9): 1956–58.
69. Younge JO, Wester VL, van Rossum EFC, Gotink RA, Wery MF, Utens EM, et al. Cortisol levels in scalp hair of patients with structural heart disease. *Int J Cardiol.* 2015; 184: 71–8.
70. Saleem M, Herrmann N, Swardfager W, Oh PI, Shammi P, Korenet G, et al. Higher Cortisol Predicts Less Improvement in Verbal Memory Performance after Cardiac Rehabilitation in Patients with Coronary Artery Disease. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2013.
71. Sauvé B, Koren G, Walsh G, Tokmakejian S, van Uum SHM. Measurement of cortisol in human hair as a biomarker of systemic exposure. *Clin Invest Med.* 2007;30(5):183–92.
72. Stalder T, Kirschbaum C, Alexander N, Bornstein SR, Gao W, Miller R, et al. Cortisol in Hair and the Metabolic Syndrome. *Endocr Res.* 2013; 98(6): 2573–80.
73. Brien KMO, Tronick EZ, Moore CL. Relationship between Hair Cortisol and Perceived Chronic Stress in a Diverse Sample. *Stress Heal.* 2013; 29: 337–44.
74. Böhm M, Schumacher H, Leong D, Mancina G, Unger T, Schmieder R, et al. Systolic Blood Pressure Variation and Mean Heart Rate Is Associated With Cognitive Dysfunction in Patients With High Cardiovascular Risk. *Hypertension.* 2015; 65: 1–9.
75. Dichi I, Breganó JW, Simão ANC, Cecchini R. Role of Oxidative Stress in Chronic Diseases. Florida: CRC Press; 2014. 720 p.

76. Kuehl LK, Hinkelmann K, Muhtz C, Dettenborn L, Wingenfeld K, Spitzer C, et al. Hair cortisol and cortisol awakening response are associated with criteria of the metabolic syndrome in opposite directions. *Psychoneuroendocrinology*. 2015; 51: 365–70.
77. Chait A, Bornfeldt KE. Diabetes and atherosclerosis: is there a role for hyperglycemia? *J Lipid Res*. 2009: 335–9.
78. Siasos G, Tsigkou V, Kokkou E, Oikonomou E, Vavuranakis M, Vlachopoulos C, et al. Smoking and Atherosclerosis: Mechanisms of Disease and New Therapeutic Approaches. 2014: 3936–48.
79. Al-Mamari A. Atherosclerosis and Physical Activity. *Oman Med J*. 2009; 24(3): 173–8.
80. Ullmann E, Barthel A, Petrowski K, Stalder T, Kirschbaum C, Bornstein SR. Pilot study of adrenal steroid hormones in hair as an indicator of chronic mental and physical stress. *Nat Sci Reports*. 2016; 6: 1–7.
81. Gerber M, Jonsdottir HI, Kalak N, Elliot C, Pühse U, Holsboer-Trachsler E, et al. Objectively assessed physical activity is associated with increased hair cortisol content in young adults. *Stress*. 2013; 16(6): 593–9.
82. Burokienė N. Širdies ir kraujagyslių ligų epidemiologinių veiksnių ir genomo sąveikos tyrimas: Daktaro disertacija. Biomedicinos mokslai, medicina 06B. Vilnius; 2016.
83. Noser E, Fischer S, Ruppen J, Ehlert U. Psychobiological stress in vital exhaustion. Findings from the Men Stress 40 + study. *J Psychosom Res*. 2018; 105: 14–20.
84. Bolton JL, Hayward C, Direk N, Lewis JG, Hammond GL, Hill LA, et al. Genome Wide Association Identifies Common Variants at the SERPINA6 / SERPINA1 Locus Influencing Plasma Cortisol and Corticosteroid Binding Globulin. *PLOS Genet*. 2014; 10(7): 1-7.