

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

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**BENDRO ANTIOKSIDACINIO AKTYVUMO TYRIMAS SKIRTINGO LYGIO
STRESĄ PATIRIANČIŲ VYRŲ KRAUJO SERUME**

Magistrantė AISTĖ BALTRUŠAITYTĖ

(parašas)

Darbo vadovas
dr. A. Mažeikienė

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
dr., doc. D. Karčiauskaitė

leidžiama ginti

(parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

2018 m., Vilnius

TURINYS

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS	4
ĮVADAS.....	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	6
1.1Streso samprata	6
1.2Streso teorijos.....	6
1.2.1 Stresas, kaip atsakas.....	6
1.2.2 Stresas, kaip stimulus.....	7
1.2.3 Stresas, kaip transakcija	8
1.3Stresoriai	9
1.4Organizmo atsakas į stresą.....	10
1.4.1 Fiziologinis organizmo atsakas	10
1.4.2 Psichologinis/subjektyvus organizmo atsakas	11
1.5 Laisvųjų radikalų ir antioksidacinės sistemos charakteristika	12
1.5.1 Laisvieji radikalai.....	12
1.5.2 Oksidacinis stresas	13
1.5.3 Oksidacinė žala baltymams, lipidams ir DNR	14
1.5.4 Antioksidantai	15
1.5.5 Antioksidantų šaltiniai	16
1.5.6 Antioksidacinės sistemos ir laisvųjų radikalų balanso svarba.....	17
1.5.7 Antioksidantų veikimo mechanizmas	17
1.5.8 Antioksidacinės būklės įvertinimas.....	18
1.5.9 Bendro antioksidacinio aktyvumo nustatymas.....	18
2. TYRIMO METODIKA	21
2.1Tyrimo imtis.....	21
2.2 Mėginio paruošimas tyrimui	22
2.3Bendro antioksidacinio aktyvumo tyrimo metodų pasirinkimas	23
2.4Bendrojo antioksidacinio aktyvumo tyrimas FRAP metodu	24
2.5 Bendrojo antioksidacinio aktyvumo tyrimas Tween 80 oksidacijos testu	26
2.6 Statistinė duomenų analizė.....	29
3. TYRIMO REZULTATAI	31
3.1Bendro antioksidacinio aktyvumo skirtumai skirtingo streso lygio grupėse	31
3.2Antropometrinių duomenų skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse	33
3.3 Biocheminių ŠKL rizikos rodiklių skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse	34
3.4 Hematologinių rodiklių skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse	36

3.5 Karotenoidų ir malondialdehido koncentracijų skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse	38
3.6 Psichologinio streso vertinimo klausimyno rezultatai	39
3.7 Kiekybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingo streso lygio grupėse	40
3.8 Kokybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingo streso lygio grupėse	41
3.9 Psichosocialinio streso įsivertinimo rezultatai skirtingo streso lygio grupėse	42
3.10 Rezultatų aptarimas	43
IŠVADOS	47
SUMMARY	48
LITERATŪROS SĄRAŠAS	49
DARBO APROBACIJA	60

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

BAA – bendras antioksidacinis aktyvumas

Bendrasis – C – bendrasis cholesterolis

CRB – C-reaktyvusis baltymas

DTL – C – didelio tankio lipoproteinų cholesterolis

FRAP (angl. *ferric reducing ability of plasma*) - redukcinio aktyvumo galios nustatymas

GASR – γ – aminosviesto rūgštis

GPx – glutationo peroksidazė

GSH – glutationas

KAH – kortikotropiną atpalaiduojantis hormonas

MDA – malondialdehidas

MTL – C – mažo tankio lipoproteinų cholesterolis

p – tikimybė pagrįstai priimti arba atmesti hipotezę vadovaujantis reikšmingumo lygmeniu

PAM – paviršinio aktyvumo medžiagos

RAD – reaktyvūs azoto dariniai

RDD – reaktyvūs deguonies dariniai

SET (angl. *single electron transfer*) – elektronų perdavimo reakcija

SOD – superoksidodismutazė

ŠKL – širdies ir kraujagyslių ligos

TAG – triacilgliceroliai

TBA (angl. thiobarbituric acid) – tiobarbiturinė rūgštis

TBARS (angl. thiobarbituric acid reactive substances) – tiobarbitūrinės rūgšties reaktyviosios medžiagos

IVADAS

Daugelį pasaulio mokslininkų domina antioksidacinės sistemos, oksidacinio ir psichosocialinio streso, bei įvairių sveikatos sutrikimų ryšys. Gausu literatūros apie stresą ir fiziologinių, psichologinių sistemų atsaką į jį, bei skirtingo streso poveikį organizmui. Daug skirtingų disciplinų (fiziologija, psichologija, medicina) vertina stresą kaip svarbų veiksnį, veikiantį sveikatą. Užsitęsusi stresinė organizmo būklė, nusilpusi antioksidacinės gynybos sistema ir sumažėjęs antioksidantų kiekis neužtikrina pilnavertės organizmo apsaugos nuo oksidacinio streso sukiamų pažeidimų ir taip didinama lėtinių ligų rizika, tokių kaip širdies ir kraujagyslių ligos [1], onkologinės ligos [2], ypač krūties navikai [3], peršalimai [2], paūmėję astmos simptomai [4], dirgliosios žarnos sindromas [5], diabetas [4].

Antioksidantai yra klasifikuojami kaip egzogeniniai (natūralūs arba sintetiniai) arba endogeniniai junginiai, kurie yra atsakingi už laisvųjų radikalų, reaktyvių deguonies darinių arba jų pirmtakų nukenksminimą. Esant normalioms sąlygoms, tarp šių antioksidantų veikimo ir laisvųjų radikalų yra pusiausvyra. Šis balansas yra būtinas organizmų išlikimui [6]. Tyrimų metu buvo pastebėta, kad daugelis antioksidacinių junginių turi didesnę ar mažesnę įtaką priešuždegimui, priešateroskleroziniam, priešvėžiniam, antimutageniniam, antikarcinogeniniam, antibakteriniam ir priešvirusiniam veikimui [7, 8, 9]. Tai skatina mokslinių tyrimų plėtojimą antioksidacinės gynybinės sistemos srityje vertinant psichosocialinio, oksidacinio streso įtaką organizmui.

Tyrimo tikslas:

Nustatyti bendrą antioksidacinį aktyvumą skirtingo lygio stresą patiriančių vyrų kraujo serume ir įvertinti jo ryšį su specializuotu streso vertinimo klausimynu.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti bendrą antioksidacinį aktyvumą tiriamųjų asmenų kraujo serume;
2. Palyginti bendro antioksidacinio aktyvumo skirtumus tarp skirtingą stresą patiriančių tiriamųjų;
3. Palyginti psichosocialinio streso vertinimo rodiklius tarp skirtingą stresą patiriančių grupių.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Streso samprata

Stresas, kaip terminas, vartojamas mokslinėje literatūroje nuo 1930-ųjų metų, pats terminas netapo populiarus iki 1980-ųjų. Šiandien „stresas“ vartojamas kasdienėje kalboje, literatūroje norint užfiksuoti įvairias žmogaus patirtis, kurios yra trikdančios [10]. Fiziologijoje ir psichologijoje streso sampratą pirmasis susidomėjo kanadietis Hans Selye [11]. Pagrindinis jo tyrimo objektas ir tikslas buvo įvertinti fiziologinius pokyčius, kurie atsiranda organizme, patyrusiame stresą. H. Selye stresą apibūdina kaip nespecifinę organizmo reakciją į kenksmingus dirgiklius [12].

1.2 Streso teorijos

Norint suprasti kaip žmogus reaguoja į stresą, svarbu suprasti skirtingas streso koncepcijas, organizmo prisitaikymą ir susidorojimą su juo, skirtingus požiūrius į stresą. Stresas gali būti vertinamas kaip atsakas, stimulus ir transakcija [13].

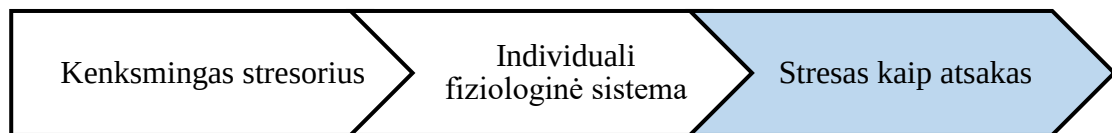
1.2.1 Stresas, kaip atsakas

Streso kaip atsako teorija buvo pristatyta H. Selye. Jis apibūdina stresą kaip fiziologinio atsako modelį. Šis modelis apibūdina stresą kaip priklausomą kintamąjį ir apima tris koncepcijas: 1. Stresas – gynybinis mechanizmas; 2. Stresas apima tris etapus: įspėjimą, pasipriešinimą ir išsekimą; 3. Užsitęsęs stresas gali lemti įvairių ligų vystymąsi.

Susidūrus su neigiamai veikiančiu veiksnio, įspėjimo fazė inicijuoja simpatinę nervų sistemą vengti stresoriaus, pvz.: padidėjusio spaudimo, temperatūros, adrenalino ar gliukozės kiekio. Pasipriešinimo etapo metu inicijuojamos fiziologinės sistemos per „skrisk arba kaukis“ reakciją į stresorių, taip grąžinant sistemas į normalią homeostazę, mažinant žalą,

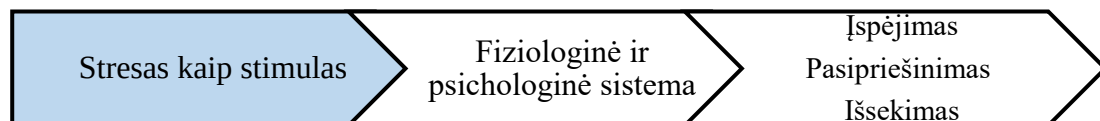
prisitaikant prie stresoriaus, tačiau tai gali lemti miego sutrikimus, psichines ligas, hipertenziją, širdies ir kraujagyslių ligas.

1983m. H. Selye pristatė idėją, kad atsakas į stresą, gali būti teigiamas ir neigiamas remiantis kognityviniais įgūdžiais ir fiziologiniais pojūčiais. Buvo išskirtas eustresas (teigiamas) ir distresas (neigiamas) [14].



1.2.2 Stresas, kaip stimulus

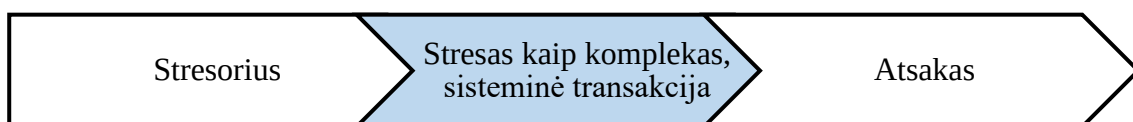
Streso, kaip stimulo teorija buvo pristatyta 1960 m. ir apibūdino stresą kaip reikšmingą gyvenimo įvykį ar pokytį, kuris reikalauja organizmo atsako, koregavimo ar prisitaikymo. Holmes ir Rahe manė, kad stresas yra nepriklausomas kintamasis sveikatos – streso – prisitaikymo mechanizme. Stresas, tai priežasties pasekmė, o ne sukeltos patirties išraiška [15]. Ši teorija teigia: 1. Pokyčiai iš esmės sukelia stresą; 2. Gyvenimiški įvykiai reikalauja įvairaus lygio prisitaikymo visoje populiacijoje; 3. Egzistuoja riba, kurią peržengus vystosi sveikatos sutrikimai.



Rahe ir Holmes [16] iš pradžių matė žmogų kaip pasyvų streso recipientą, kuris neturėjo galimybės nustatyti stresoriaus intensyvumo. Vėliau Rahe pristatė koncepciją, siūlydamas, kad pokyčiai ar kiti gyvenimiški įvykiai gali būti interpretuojami kaip darantys teigiamą arba neigiamą poveikį remiantis kognityviniais ir emociniais faktoriais. Tačiau, streso kaip stimulo teorija neapima tokių kintamųjų kaip ankstyvas supratimas, aplinka, palaikymas, asmenybė ir gyvenimiška patirtis.

1.2.3 Stresas, kaip transakcija

Norėdamas tiksliau paaiškinti stresą kaip dinaminį procesą R. Lazarus išvystė transakcinę streso teoriją, kuri apibūdina stresą kaip transakciją tarp žmogaus (įskaitant kognityvinę, fiziologinę, psichologinę, emocinę neurologinę sistemas) ir jį supančią aplinką [17]. Tyrėjai įvedė kelis kintamuosius į šią teoriją, išplėsdami ir kategorizuodami įvairius veiksnius atsižvelgdami į sudėtingas sistemas susidūrimo su stresoriumi metu [18]. Streso pobūdis buvo aprašytas kaip: ūmus, epizodinis ar periodiškas, lėtinis. Išskirti skirtingi stresorių tipai: situacija, būklė, įvykis, kurie vėliau buvo suskirstyti į kategorijas pagal nuspėjamumą, trukmę, toną ir poveikį.



Savo knygoje R. Lazarus [17] pristatė ankstesnių streso, sveikatos ir susidorojimo su stresu tyrimų integraciją, kurioje buvo susikoncentruota į stresorių, kaip pagrindą patiriant stresą. Vertinat asmens reakciją į stresorių, matomas jo atsakas ir gebėjimas su juo susidoroti. Ar stresorius vertinamas kaip sukeliantis diskomfortą įtakoja įvairūs asmeniniai ir kontekstiniai veiksniai įskaitant sugebėjimus, išteklius, suvaržymus [19].

1 lentelė. Streso teorijų apibendrinamoji lentelė

Streso teorija	Streso koncepcija	Susidorojimo su stresu koncepcija	Įtaka sveikatai
Atsako teorija [11]	Stresas yra nespecifinis atsakas į bet kokį kenksmingą dirgiklį. Psichologinis atsakas visada toks pat nepriklausomai nuo dirgiklio – prisitaikymo sindromas	Nėra susidorojimo su stresu <i>per se</i> . Naudojama koncepcija „pasipriešinimo stadija“, kurios tikslas yra išvengti žalos	Remiantis prielaida, kad kiekvienas žmogus gimsta su tam tikru energijos kiekiu ir kiekvienas susidūrimas su stresu energijos atsargas mažina ir jos negali būti atstatytos, buvo pasiūlyta, kad stresas lemia „kūno susidėvėjimą“

Stimulo teorija [15]	Stresas yra sinonimas „gyvenimo įvykiui“. „Stresas“ yra gyvenimo įvykiai, kurie reikalauja pastangų prisitaikant	Susidorojimas su stresu neapibūdintas	Prisitaikymas prie visų situacijų peržengiant slenkstį daro žmogų pažeidžiamą ir didina riziką fizinių ar psichologinių ligų vystymuisi
Transakcijos teorija [20]	Terminas stresas suprantamas kaip dalis subjektyvių reiškinių, įskaitant kognityvinį vertinimą, emocijas, susidorojimo mechanizmus. Stresas patiriamas kai situacija pareikalauja daugiau nei žmogus gali ir numatoma tam tikra žala ar nuostoliai	Susidorojimas suvokiamas kaip pastangos įvertinti grėsmę ar valdyti patiriamas emocijas (emocijomis grįstas susidorojimas ir problema grįstas susidorojimas)	Sveikatos būklė dėl adaptacijos skirstoma į ilgalaikę ir trumpalaikę. Trumpalaikė būklė apima socialinį veikimą konkrečioje situacijoje, teigiamą ir neigiamą dvasinę būklę susidūrimo su stresu metu ir po jo, somatinę būklę susidariusią dėl stresinės situacijos. Ilgalaikė būklė taip apima socialinį veikimą, moralę ir somatinę būklę

1.3 Stresoriai

Išanalizavus streso sampratą, suprantama, kad stresas yra sukeltas tam tikrų veiksnių – stresorių. Lietuvių kalbos žodynas stresorių apibūdina kaip įvykį, būklę ar situaciją, į kuriuos organizmas reaguoja, jie yra vertinami kaip keliantys grėsmę [21]. Stresoriaus samprata labai plati: nuo kasdienių atsitikimų iki situacijų liečiančių visą pasaulį, kurie sukelia organizmo atsaką. Stresoriais gali būti [22]: skyrybos, nuolatiniai konfliktai, finansinės problemos ir kt.

Be aptarto stresorių identifikavimo, J.S. Werner kategorizavo stresorius pagal padėtį (išorinis ar vidinis), trukmę, tęstinumą (ūmus, trumpalaikis; lėtinis, su protarpiais; lėtinis), prognozavimą (nuspėjamas arba ne), toną (teigiamas arba neigiamas), poveikį (normalus arba katastrofiškas). Atsižvelgdama į šiuos elementus autorė pasiūlė naują stresorių klasifikaciją (2 lentelė) [23].

2 lentelė. Stresorių klasifikacija pagal J.S. Werner

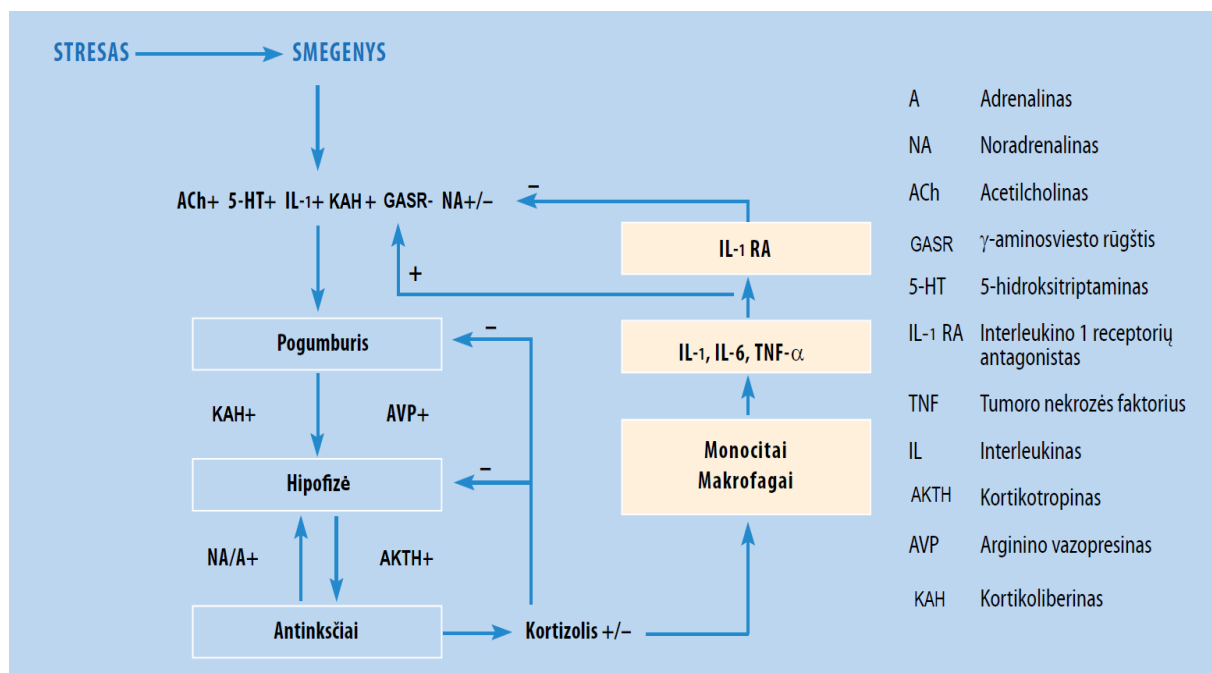
Stresoriaus kategorija	Apibrėžimas
Susijęs su gyvenimu, normalus	Įvykis, situacija, būklė, kurių paprastai tikimasi, kurioje turima patirties, bet reikalauja prisitaikymo
Susijęs su sveikata, normalus	Įvykis, situacija, būklė, kurie yra susiję su sveikata ar jos gydymu, paprastai yra tikimasi, bet reikalauja prisitaikymo
Susijęs su gyvenimu, katastrofinis	Įvykis, situacija, būklė, kuri yra netikėta, reta ir sukelia sunkių pasekmių adaptuojantis
Susijęs su sveikata, katastrofinis	Įvykis, situacija, būklė, kurie susiję su sveikata ar jos gydymu, paprastai yra nenuspėjama, reta, sukelianti sunkias pasekmes adaptuojantis

1.4 Organizmo atsakas į stresą

1.4.1 Fiziologinis organizmo atsakas

Stresas koordinuoja organizmo atsaką, prisitaikymą prie bet kokio pobūdžio stresoriaus. Pagrindinė šios sistemos dalis: pagumburio – hipofizės - antinksčių sistema. Šios sistemos aktyvavimas sukelia elgesio ir periferinius pokyčius, kurie pagerina organizmo gebėjimą reguliuoti homeostazę ir padidina išgyvenimo galimybes [24, 24].

Pagumburio – hipofizės - antinksčių sistema. Smegenų žievėje įvairaus streso įtakoje, sukelti nerviniai impulsai duoda atsaką limbinėje sistemoje. Ši skatina neuromediatorių (acetilcholino, 5-hidroksitriptamino, interleukino 1), kortikoliberino (kortikotropiną atpalaiduojančio hormono, KAH), γ -aminosviesto rūgšties (GASR) ir noradrenalino) išsiskyrimą. Šie neuromediatoriai aktyvuoja pagumburio – hipofizės – antinksčių sistemą. (1 pav.) [26].



1 pav. Ryšys tarp pagumburio – hipofizės – antinksčių sistemos

1.4.2 Psichologinis/subjektyvus organizmo atsakas

Subjektyvūs pojūčiai, kurie dažnai jaučiami kaip streso išraiška: galvos skausmas, dusulys, galvos svaigimas, raumenų tempimas, nuovargis, padažnėjęs širdies plakimas, apetito padidėjimas arba stoka, miego problemos. Dažnai stresas pasireiškia verkimu, rūkymu, persivalgymais, alkoholio vartojimu, drebuliu. Žmonės, kurie patiria stresą išsireiškia, kad tai neigiamai veikia jų gebėjimą funkcionuoti kasdieniame gyvenime. Stresas blogina psichinę koncentraciją, gebėjimą spręsti problemas, priimti sprendimus ir gebėjimą atlikti darbus veiksmingai ir efektyviai [10].

3 lentelė. Diagnozės arba simptomai siejami su stresu [27]

Angina	Antsvorio sindromas	Aritmija	Artritai
Astma	Cukrinis diabetas	Dirglioji žarna	Depresija
Dermatitas	Kolitas	Emfizema	Disfunkcijos
Dispėja	Kvėpavimo sutrikimai	Juosmens skausmai	Epilepsija
Fibromialgija	Mikčiojimas	Menstruacinio ciklo sutrikimai	Gastritas
Pūslelinė	Nerimas	Persivalgymas	Hipertenzija
Kalbos sutrikimai	Nugaros skausmai	Spuogai	Nutukimas
Nemiga	Svaigimas	Svorio mažėjimas	Nuplikimas
Opos			Tikai
Ūžimas ausyse			

1.5 Laisvųjų radikalų ir antioksidacinės sistemos charakteristika

Laisvųjų radikalų sukeliamą žalą yra siejama su daugelio degeneracinių ligų formavimusi, įskaitant vėžį, širdies ir kraujagyslių ligas, kataraktą ir senėjimą. Reaktyvių deguonies darinių (RDD) perteklius gali sukelti oksidacinį stresą, sąlygojantį ląstelių pažeidimo ir galintį sukelti jų žūtį, todėl ląstelėse egzistuoja antioksidacinė sistema padedanti išvengti RDD pertekliaus. Laisvųjų radikalų sukeltos reakcijos yra svarbus veiksnys biologinių sistemų homeostazėje palaikant balansą tarp RDD gamybos ir neutralizavimo; tačiau balansas dažnai yra nukrypęs link laisvųjų radikalų pertekliaus formavimosi, o tai lemia per laiką besikaupiančią ląstelių žalą [28, 74].

1.5.1 Laisvieji radikalai

Laisvieji radikalai tai reaktyvios cheminės medžiagos, turinčios nesuporuotą elektroną išorinėje orbitalėje [29]. Reaktyvios deguonies formos yra klasifikuojamos į dvi grupes: radikalines ir neradikalines deguonies formas (4 lentelė).

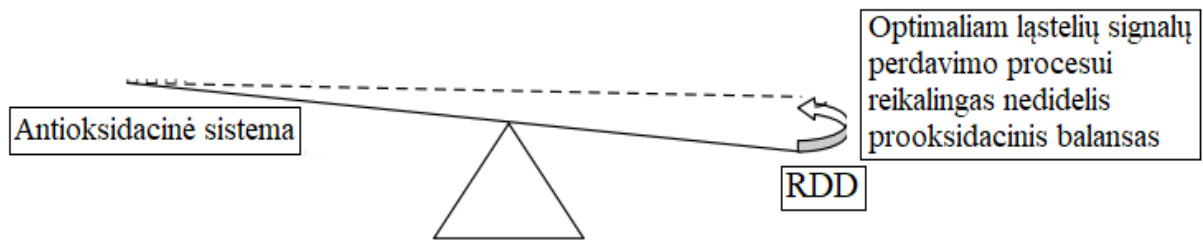
4 lentelė. Laisvaradikalines reakcijas sukeliantys reaktyvūs deguonies junginiai

Superoksido radikalas ($O_2^{\cdot -}$)	Hidroksilo radikalas ($\cdot OH$)	Azoto monoksidas ($NO^{\cdot}$)	Peroksilo radikalas ($ROO^{\cdot}$)	Vandenilio peroksidas (H_2O_2)	Hipochlorinės rūgštis ($HOCl$)	Singletinio deguonis (1O_2)
---	---	---	---	--	--	--

Nepriklausomai nuo to, kokie atsargūs esame, negalime išvengti endogeninių ir egzogeninių laisvųjų radikalų formavimosi dėl normalaus metabolizmo ir aplinkoje esančių oksiduojančių medžiagų [30]. Laisvieji radikalai susidaro, kai mūsų ląstelės sukuria energiją iš maisto ir deguonies, kai susiduriame su mikrobinėmis infekcijomis, intensyviu sportu, teršalais ar toksinais, tokiais kaip cigarečių dūmai, alkoholis, jonizuojanti ir UV spinduliuotė, pesticidai ir ozonas. Svarbiausi endogeniniai oksidacijos agentų, skatinančių senėjimą, šaltiniai yra mitochondrijų: elektronų transportavimo grandinės ir azoto oksido sintazės reakcija. Ne mitochondriniai laisvųjų radikalų šaltiniai yra mikrosominiai citochromo P_{450} fermentai, peroksisominė beta-oksidacija ir fagocitinių ląstelių žūtis [31].

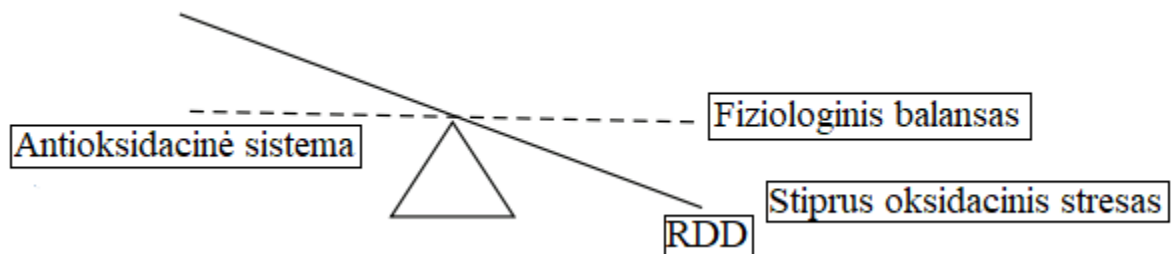
1.5.2 Oksidacinis stresas

Įrodyta, kad oksidacinis stresas yra susijęs su daugiau kaip 100 ligų [32]. Pirmasis oksidacinį stresą apibūdino H. Sies [32] kaip sutrikusią pusiausvyrą tarp laisvųjų radikalų formavimosi ir antioksidacinės sistemos gebėjimo juos neutralizuoti (2 ir 3 pav).



2 pav. Suaugusio žmogaus antioksidacinio / oksidacinio balanso modelis - pusiausvyra šiek tiek pakinta dėl padidintos RDD produkcijos. Fiziologinę pusiausvyrą vaizduoja brūkšninė linija.

Oksidacinis stresas gali būti apibrėžiamas kaip pernelyg didelis RDD kiekis, kai RDD gamybos ir pašalinimo pusiausvyra sutrikusi (pastarąją reguliuoja antioksidacinė apsauga). Kitaip sakant, oksidacinis stresas yra pasekmė padidėjusio laisvųjų radikalų kiekio ir (arba) sumažėjusios fiziologinės antioksidacinės sistemos aktyvumo. Stiprus oksidacinis stresas gali sukelti ląstelių mirtį. Ląstelės patiriamo oksidacinio streso laipsnis priklausys nuo RDD sudarančių reakcijų ir RDD neutralizavimo sistemos aktyvumo. Esant normalioms fiziologinėms sąlygoms prooksidantų ir antioksidacinių medžiagų pusiausvyra yra šiek tiek nukreipta prooksidantų naudai, tokiu būdu skatinant lengvą oksidacinį stresą (pav. 2) [34].



3 pav. Oksidacinis stresas dėl ūmaus RDD formavimosi ir antioksidacinės gynybos sutrikimų (fiziologinę pusiausvyrą vaizduoja brūkšninė linija).

1.5.3 Oksidacinė žala baltymams, lipidams ir DNR

Oksidacinė žala baltymams. Baltymai oksidaciniu būdu gali būti modifikuojami trimis būdais: specifinių aminorūgščių oksidacinė modifikacija, peptidų skilimas tarpininkaujant laisvajam radikalui ir baltymų kryžminių jungčių formavimas dėl reakcijos su lipidų peroksidacijos produktais. Baltymai, kurių sudėtyje yra amino rūgščių, tokių kaip metioninas, cisteinas, argininas ir histidinas, yra jautriausi oksidacijai [35]. Baltymų modifikacija dėl laisvųjų radikalų padidina jautrumą fermentų proteolizei. Oksidacinė žala baltymams gali turėti įtakos fermentų, receptorinei pernašos per membraną funkcijai. Oksidaciniu būdu pažeisti baltyminiai produktai gali turėti reaktyvių grupių, kurios gali prisidėti prie membranos pažeidimo ir kitų ląstelės funkcijų sutrikdymo. Peroksilo radikalai paprastai laikomi laisvųjų radikalų rūšimi, kurie sukelia baltymų oksidaciją. RDD gali pažeisti baltymus, gaminti karbonilus ir kitokias aminorūgščių modifikacijas. Baltymų oksidacija turi įtakos signalo perdavimo mechanizmui, fermentų aktyvumui, dėl kurių vyksta senėjimas [36].

Lipidų peroksidacija. Oksidacinis stresas ir oksidacinis biomolekulių modifikavimas yra susiję su daugeliu fiziologinių ir patofiziologinių procesų, tokių kaip senėjimas, aterosklerozė, uždegimas ir kancerogeneizė. Lipidų peroksidacija yra procesas apimantis laisvųjų radikalų šaltinį, kuris toliau gali veikti kaip antrinis žalos sukėlėjas arba tiesiogiai reaguoti su kitomis biomolekulėmis, didinant biocheminius pažeidimus [37]. Ląstelių membranose lipidų peroksidacija vyksta dėl jose esančių riebalų rūgščių, vyksta radikaline grandininė reakcija. Manoma, kad hidroksilo radikalas dalyvauja RDD susidaryme, pašalinamas vandenilio atomas, susidaro lipidų radikalai. Be to, kai yra deguonies susidaro peroksilo radikalas; šis labai reaktyvus radikalas „puola“ kitas riebalų rūgštis formuodamas lipidų hidroperoksidą ir naują radikalą. Taigi, lipidų peroksidacija geba sklirti. Dėl jos susidaro įvairūs junginiai, pavyzdžiui, malanodialdehidas ir kt. Šie junginiai yra naudojami kaip lipidų peroksidacijos žymenys ir buvo patikrinti daugelyje ligų, tokių kaip neurodegeneracinės ligos, diabetas [38].

DNR oksidacinė žala. Daugelis eksperimentų aiškiai rodo, kad DNR ir RNR yra jautrios oksidaciniam poveikiui. Yra duomenų, kad ypač senstant ir vystantis onkologijoms susirgimams, DNR laikoma pagrindiniu taikiniu [39]. Nustatyta, kad oksidacinių nukleotidų dTG ir 8-hidroksi-2-deoksiguanozinų kiekis padidėja oksidacinio DNR pažeidimo metu esant

UV spinduliuotei ar laisvųjų radikalų pažeidimui. Manoma, kad mitochondrijų DNR, kuri turi įtakos daugeliui ligų, yra labiau jautri oksidaciniams pažeidimams [40].

1.5.4 Antioksidantai

Antioksidantas yra stabili molekulė, gebanti perduoti elektroną laisvajam radikalui ir jį neutralizuoti, taip sumažindamas jų sukeliama žalą [41]. Antioksidantai gali sąveikauti su laisvaisiais radikalais ir nutraukti grandinines reakcijas prieš įvykstant gyvybiškai svarbių molekulių pažeidimui. Antioksidantai, įskaitant glutationą, šlapimo rūgštį, gaminami esant normaliam metabolizmui organizme [42]. Kiti antioksidantai yra gaunami su maistu. Organizme yra keletas fermentinių sistemų neutralizuojančių laisvuosius radikalus, pagrindiniai yra vitaminas E (α -tokoferolis), vitaminas C (askorbo rūgštis) ir β -karotenas [43].

Antioksidantas yra apibūdinamas kaip bet kokia medžiaga, kurios ir nedidelė koncentracija, palyginti su oksiduojančiu substratu, apsaugo nuo oksidacijos [44]. Idealus antioksidantas turėtų būti lengvai absorbuojamas ir turėtų užkirsti kelią laisvųjų radikalų susidarymui fiziologinėmis sąlygomis. Jis turėtų veikti vandeninėje terpėje ir teigiamai įtakoti genų raišką [45]. Ląstelių homeostazę reguliuoja endogeninė antioksidacinė gynybinė sistema, kuri apima endogeninius antioksidacinius fermentus, tokius kaip superoksido dismutazė (SOD), katalazė, glutationo peroksidazė (GPx), glutationas (GSH), baltymai, šlapimo rūgštis, kofermentas Q ir lipoinė rūgštis. Žmogaus antioksidacinė gynybinė sistema yra sudėtinga, ji turi sumažinti RDD lygį, tačiau tuo pačiu leisti naudoti RDD ląstelių signalų perdavimui ir potencialo reguliavimui [46].

RDD generavimas ir antioksidacinės gynybos aktyvumas *in vivo* yra daugiau ar mažiau subalansuotas. Kaip jau buvo minėta, balansas gali būti šiek tiek nukrypęs RDD naudai, todėl stebimas nuolatinis RDD formavimas ir maža oksidacinė žala žmogaus organizmui (pav. 1). Tai sukuria antrosios endogeninės antioksidacinės gynybos sistemos kategoriją, kuri pašalina arba taiso pažeistas biomolekules, prieš joms pradėdant kauptis dėl ko pasikeistų ląstelių metabolizmas ir atsirastų negrįžtamas pažeidimas [47]. Oksidacijos pažeistos nukleino rūgštys yra taisomos specifiniais fermentais, oksiduoti baltymai pašalinami proteolitinių sistemų, o oksiduotų lipidų sluoksnius gali pasiekti lipidų skaidymo fermentai – fosfolipazės. [47]. Panašu, kad kai kurių arba visų taisymo sistemų sutrikimai labiau prisideda prie senėjimo ir su amžiumi

susijusių ligų, nei vidutinio sunkumo antioksidantų ir RDD formavimosi svyravimai [48, 49, 50]. Daugelis esminių atitaisymo sistemų tampa neveiksmingos senstančiose ląstelėse, padaryta žala kaupiasi, pavyzdžiui, lizosominis lipofuscino kaupimasis [51, 52]. Su amžiumi susiję oksidaciniai pokyčiai yra svarbiausi neprolifuojančiose ląstelėse, pvz., neuronuose ir širdies miocituose [53]. Be to, Dröge ir Schipper [54] bei Bokov ir kt. [55] siūlo, kad signalų perdavimo sutrikimai, atsirandantys senėjant, gali būti dėl nepakankamo reaktyvių junginių rūšių kiekio arba netinkamos reaktyviosios rūšies produkcijos, nors žinoma, kad oksidacinė žala didėja su amžiumi įvairiuose audiniuose ir gyvūnų modeliuose [55].

1.5.5 Antioksidantų šaltiniai

Egzistuoja keturi endogeniniai oksidantų šaltiniai. 1. Normalus aerobinis kvėpavimas, kurio metu mitochondrijos naudoja O_2 , nuosekliais etapais gaminant H_2O_2 ir $-OH$ kaip šalutinį produktą. 2. Bakterijomis ar virusais užsikrėtusios ląstelės sunaikinamos fagocitozės būdu su oksidacinio azoto oksido (NO) išsiskyrimu: O_2^- , H_2O_2 ir ClO^- . 3. Peroksisoma gamina H_2O_2 kaip riebalų rūgščių ir kitų lipidų molekulių skilimo šalutinį produktą, kurį dar labiau suardo katalazė. Tyrimai rodo, kad tam tikromis sąlygomis peroksidai išvengia suardymo ir taip padidina oksidacinį stresą, dėl kurio atsiranda DNR pažeidimai. 4. Gyvūnų citochromo P_{450} fermentai yra viena iš pagrindinių gynybos sistemų, užtikrinančių apsaugą nuo natūralių toksiškų cheminių medžiagų iš augalų, pagrindinio mitybinių toksinų šaltinio [56].

Su maistu žmogaus įvairūs antioksidantai tiekiami žmogaus organizmui. Vitaminai C ir E, β -karotenas ir kofermentas Q yra populiariausi antioksidantai gaunami su maistu, iš kurių vitaminas E yra augaliniuose aliejuose ir gausiai randamas kviečių gemaluose. Tai riebaluose tirpus vitaminas, absorbuotas žarnyne ir pernešamas plazma lipoproteinų pagalba. Būdamas riebaluose tirpus, vitaminas E gali veiksmingai užkirsti kelią membranos lipidų peroksidacijai [57, 58].

Augalai (vaisiai, daržovės, vaistažolės) gali turėti įvairias laisvųjų radikalų šalinimo molekules, tokias kaip fenoliniai junginiai (fenolio rūgštys, flavonoidai, chinonai, kumarinai, lignanai, stilbenai, taninai), azoto junginiai (alkaloidai, aminai, betalainai), vitaminai,

terpenoidai (įskaitant karotenoidus) ir kai kurie kiti endogeniniai metabolitai, pasižymintys dideliu antioksidaciniu aktyvumu [59, 60, 61, 62].

Didesnis vaisių ir daržovių vartojimas siejamas su sumažėjusiu ląstelių pažeidimo *in vitro* rodikliu, pavyzdžiui, mažesniu oksidaciniu stresu, DNR pažeidimu, piktybine transformacija ir kt. epidemiologiškai atrodo, kad jie sumažina tam tikrų vėžio tipų ir degeneracinių ligų, tokių kaip išeminės širdies ligos ir kataraktos atvejus [63, 64, 65, 66, 67, 68]. Padidėjęs ar ilgesnis laisvųjų radikalų veikimas gali sukurti RDD gynybos mechanizmus, prisidedamas prie ligų vystymosi ir senėjimo. Kadangi ląstelių oksidacinė žala didėja kartu su amžiumi, padidėjęs antioksidantų kiekis, kuris gaunamas iš vaisių ir daržovių gali palaikyti endogeninę antioksidacinę gynybą. Antioksidantai, tokie kaip vitaminas C ir E, karotenoidai ir polifenoliai (pvz., flavonoidai), šiuo metu laikomi pagrindiniais egzogeniniais antioksidantais. Klinikiniai tyrimai rodo, kad vaisių, daržovių, grūdų, ankštinių daržovių ir omega-3 riebalų rūgščių turinčios dietos gali padėti žmonėms ligų prevencijos srityje [69].

1.5.6 Antioksidacinės sistemos ir laisvųjų radikalų balanso svarba

Laisvųjų radikalų gamyba su amžiumi didėja [70], o kai kurie endogeniniai gynybos mechanizmai silpnėja [71]. Šis disbalansas veda prie laipsniško ląstelių struktūros pažeidimo, senėjimo [72, 73].

Antioksidacinė gynybos sistema turi sumažinti labiausiai kenksmingų RDD kiekį, tuo pačiu išlaikyti pakankamą RDD kiekį naudingais tikslais (pvz., ląstelių signalų perdavimas ir redokso reguliavimas). Ląstelės paprastai toleruoja tokį silpną oksidacinį stresą; šis stresas gali net pakoreguoti ląstelių pažeidimo šalinimo procesus ir kitas apsaugos sistemas [74].

1.5.7 Antioksidantų veikimo mechanizmas

Yra pasiūlyti du pagrindiniai antioksidantų veikimo mechanizmai [75]. Pirmasis yra grandininės reakcijos nutraukimo mechanizmas, kuriuo antioksidantas paaukoja elektroną laisvajam radikalui. Antrasis mechanizmas susijęs su RDD /RAD iniciatorių pašalinimu.

Antioksidantai gali paveikti biologines sistemas skirtingais mechanizmais, įskaitant elektronų donorystę, genų ekspresijos reguliavimą [76].

1.5.8 Antioksidacinės būklės įvertinimas

Didėja susidomėjimas vertinant antioksidacinę būklę klinikiniais tikslais [77]. Ląstelių apsaugą nuo nepageidaujamo oksidacijos poveikio daugiausia vykdo fermentai, tokie kaip superoksidodismutazė (SOD), katalazė ir glutationo peroksidazė, o nefermentiniai antioksidantai atlieka pagrindinį vaidmenį plazmoje. Vienas iš būdų įvertinti antioksidacinę būklę yra individualių antioksidantų (pvz., askorbato, α -tokoferolio, uratų) kraujyje ar audinių homogenatuose matavimas. Visų junginių, šiuo metu pripažintų antioksidantais, individualios koncentracijos, turėtų būti išmatuotos [77]. Tačiau šis metodas turi keletą trūkumų: 1) užima daug laiko, yra brangus ir techniškai sudėtingas, 2) jis negali nustatyti sinergetinio poveikio tarp antioksidantų ir 3) neatsižvelgia į šiuo metu nežinomų antioksidantų poveikį. Kitas būdas - išmatuoti bendrą antioksidacinį aktyvumą, veikiant mėginius kontroliuojamomis oksidacinėmis sąlygomis ir matuojant oksidacijos greitį arba laiką, reikalingą oksidacijai. Antioksidacinio potencialo *per se* nustatymas taip pat nėra baigtinis, nes sunku nustatyti, kaip veikia skirtingi antioksidantai: užkerta kelią RDD susidarymui, neutralizuoja laisvuosius radikalus, indukuoja signalizavimo būdus ar atkuria oksidacinį pažeidimą [78].

Kol kas nėra duomenų apie tipinę asmens oksidacinio streso būklę [79]. Nėra jokių nuorodų apie optimalius antioksidantų kiekius šlapime, kraujyje ar net ląstelėse. Be to, nežinomi antioksidantų kiekiai ir deriniai, kurių reikia teigiamam poveikiui *in vivo* [74]. Patobulinta metodika žmonių oksidacinio streso nustatymui gali įveikti bent jau kai kuriuos iš šių trūkumų.

1.5.9 Bendro antioksidacinio aktyvumo nustatymas

Egzistuoja įvairūs antioksidacinio aktyvumo matavimo metodai. Remiantis šiais metodais, tyrimo metu paprastai generuojami tam tikri radikalai, o mėginyje prieš juos išmatuojamas bendras antioksidacinis aktyvumas [80]. Šiame darbe bendras antioksidacinis aktyvumas kraujo serume įvertintas dviem metodais:

1. Elektronų perdavimu (SET) pagrįstu bendro antioksidacinio aktyvumo tyrimo metodu FRAP (angl. ferric reducing ability of plasma) remiantis I. Benzie ir J. J. Strain metodika [81, 82].

2. Bendrojo antioksidacinio aktyvumo (BAA) nustatymas tiriamojoje medžiagoje taikant Tween 80 oksidacijos testą remiantis L. Galaktionovos su bendraautoriais metodika [83]. Bendras antioksidacinis aktyvumas nustatytas išmatuojant 2-tiobarbiturinės rūgšties reaktyviasias medžiagas (TBARS) po Tween 80 oksidacijos.

Tiobarbiturinės rūgšties reaktyviosios medžiagos. Tiobarbiturinės rūgšties reaktyviųjų medžiagų (TBARS) matavimas tikriausiai yra vienas iš plačiausiai naudojamų metodų, skirtų lipidų peroksidacijos galutiniam produktui malondialdehidui nustatyti [84]. TBARS - formuojamos kaip lipidų peroksidacijos šalutinis produktas (t. y. kaip riebalų degradacijos produktai), kuriuos galima aptikti TBARS tyrimu, naudojant tiobarbiturinę rūgštį. RDD turi labai trumpą gyvavimo trukmę, juos sunku išmatuoti tiesiogiai, bet galima išmatuoti žalos produktus, atsirandančius dėl oksidacinio streso, tokius kaip TBARS [85].

TBARS tyrimo metu išmatuojamas malondialdehidas (MDA) esantis mėginyje, taip pat malondialdehidas, susidarantis iš lipidų hidroperoksidų reakcijos hidrolizės sąlygomis [86]. MDA yra vienas iš kelių mažos molekulinės masės galutinių produktų, susidariusių skaidant tam tikrus pirminius ir antrinius lipidų peroksidacijos produktus. Tačiau tik kai kurie lipidų peroksidacijos produktai generuoja MDA, o MDA nėra nei vienintelis galutinis riebalų peroksidacijos susidarymo ir skilimo produktas, nei medžiaga, susidariusi tik per lipidų peroksidaciją. Šie ir kiti svarstymai iš išsamios literatūros apie MDA, TBA reaktyvumą ir oksidacinių lipidų skilimą patvirtina išvadą, kad MDA nustatymas ir TBA testas gali pasiūlyti supratimą apie sudėtingą lipidų peroksidacijos procesą [87].

Malondialdehidas. Malondialdehidas (MDA) yra organinis junginys, kurio nominali formulė $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Malondialdehidas yra labai reaktyvus bespalvis junginys, jis atsiranda natūraliai ir yra oksidacinio streso žymuo [88]. Malondialdehidas atsiranda dėl polinesočiųjų riebiųjų rūgščių lipidų peroksidacijos, todėl lipidų peroksidacijos laipsnis gali būti nustatomas pagal malondialdehido kiekį audiniuose [89]. Reaktyviosios deguonies rūšys veikia polinesočiąsias riebalų rūgštis, formuojant malondialdehidą [90]. Šis junginys yra reaktyvusis aldehidas ir yra vienas iš daugelio reaktyvių elektrofilų rūšių, sukeliančių toksinį stresą ląstelėse, ir sudaro kovalentinius baltymų aduktus, vadinamus pažangiais lipoksidacijos galutiniais

produktais (ALE), panašiai kaip ir pažangius galutinio glikacido galutinius produktus (AGE). Šio aldehido gamyba naudojama kaip biologinis žymeklis, norint išmatuoti organizmo oksidacinio streso lygį [91, 92].

Malondialdehidas ir kitos tiobarbiturinės reaktyviosios medžiagos (TBARS) kondensuojasi su dviem tiobarbiturinės rūgšties ekvivalentais, kad gautų fluorescuojantį darinį, kurį galima išmatuoti spektrofotometriškai [88].

2. TYRIMO METODIKA

2.1 Tyrimo imtis

Tyrimas atliktas kaip dalis 2015-2018 metais vykdomo Lietuvos mokslų tarybos lėšomis finansuojamo projekto „Lėtinio streso nulemti aterosklerozės proceso ypatumai: naujų biožymenų paieška ir tyrimas“. Tyrime dalyvavo 220 sveikų 22-55 metų amžiaus vyrai, į Vilniaus universiteto ligoninės (VUL) „Santaros klinikų“ Šeimos medicinos centrą atvykę dėl kitų priežasčių. Pacientams buvo pristatytas vykdomas projektas bei duodama pasirašyti asmens sutikimo forma. Dalyvauti sutikusiems asmenims išmatuotas ūgis, svoris, liemens apimtis, arterinio kraujo spaudimas, širdies susitraukimų dažnis, nukerpamas reikiamas kiekis plaukų kortizolio koncentracijos nustatymui. Duodamas namuose užpildyti psichosocialinio streso vertinimo klausimynas.

Kortizolio koncentracija plaukuose efektyviosios skysčių chromatografijos metodu magistro baigiamajame darbe nustatyta magistrantės E. Mazgelytės, vadovaujant doc. dr. D. Karčiauskaitei („Kortizolio koncentracijos plaukuose sąsajos su tradiciniais aterosklerozės rizikos veiksniais“). Karotenoidų koncentracija kraujo serume efektyvios skysčių chromatografijos metodu magistro baigiamajame darbe nustatyta magistrantės V. Genytės vadovaujant dr. A. Mažeikienei („Karotenoidų koncentracijos nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu, skirtingo lygio lėtinį stresą patiriančių asmenų kraujo serume“). MDA koncentracija kraujo serume efektyviosios skysčių chromatografijos metodu magistro baigiamajame darbe nustatyta magistrantės D. Gataveckaitės, vadovaujant doc. dr. D. Karčiauskaitei („Oksidacinio streso vertinimas pagal malondialdehido koncentraciją kraujyje ir ryšys su patiriamu psichosocialiniu stresu“). Tyrimai atlikti kaip minėto projekto dalis.

Dalyviams laboratoriniai tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centre. Jiems buvo nustatyta lipidų apykaitos žymenų (bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių, mažo tankio lipoproteinų cholesterolio, didelio tankio lipoproteinų cholesterolio), uždegimo žymens – didelio jautrumo C reaktyvaus baltymo koncentracijos kraujo serume bei išmatuoti kai kurie hematologiniai rodikliai.

Streso lygis įvertintas pagal kortizolio koncentraciją plaukuose: asmenys, kurių kortizolio koncentracija buvo iki medianos ($<45,6250\text{ng/g}$) – įvardijami kaip patiriantis mažą

streso lygį, asmenys, kurių kortizolio koncentracija virš medianos įvardijami kaip patiriantys aukštą streso lygį. Tiriamosios grupės charakteristikos pateikiamos 5 lentelėje.

5 lentelė. Tiriamosios grupės charakteristikos pagal streso lygį

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250ng/g))		Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250ng/g))	
	Mediana	Kvartiliai (Q1-Q3)	Mediana	Kvartiliai (Q1-Q3)
Amžius (m)	35,0	28,0 – 45,0	40,0	32,0 – 47,0
Svoris (kg)	83,45	74,90 – 88,90	85,2	80,00 – 97,02
Ūgis (cm)	184,0	178,0 – 188,0	181,5	179,0 – 187,0
Liemens apimtis (cm)	89,00	81,00 – 94,00	89,5	85,0 – 101,0
Gliukozė (mmol/l)	5,27	4,96 – 5,40	5,24	4,99 – 5,57
CRB (mg/l)	0,60	0,30 – 1,25	0,66	0,40 – 1,30
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	5,00	4,16 – 5,48	5,02	4,61 – 5,92
Triacilgliceroliai (mmol/l)	1,16	0,88 – 1,71	1,21	0,88 – 1,85
DTL cholesterolis (mmol/l)	1,21	1,07 – 1,38	1,16	1,02 – 1,40
MTL cholesterolis (mmol/l)	3,10	2,46 – 3,57	3,22	2,73 – 3,91
Kortizolis plaukuose (ng/g)	15,98	8,23 – 25,44	134,76	77,16 – 243,02

CRB - C-reaktyvus baltymas; DTL – didelio tankio lipoproteinai; MTL - mažo tankio lipoproteinai;

2.2 Mėginio paruošimas tyrimui

Tiriamieji į VUL „Santaros klinikų“ Šeimos medicinos centrą atvyko tarp 7:00 ir 7:30 valandos ryte. Tiriamieji iki tyrimo buvo 8 – 12 val. nevalgę, nerūkę, nevartoję alkoholio. Surinkti veninio kraujo ėminiai, naudoti 5 ml vakuuminiai serumo mėgintuvėliai *BD Vacutainer SST II Advance (Becton Dickinson, JAV)*. Mėgintuvėliai centrifuguoti 10 min. 3000 aps./min greičiu. Nucentrifugavus, serumas perpiltas į mikromėgintuvėlius. Gauti serumai iki tyrimo buvo laikyti šaldiklyje -80°C temperatūroje.

Tyrimams naudota įranga ir laboratoriniai reikmenys:

- Spektrofotometras „Shimadzu UV - 1601“ (*Shimadzu Corp., Japonija*)
- Sūkurinis maišytuvas (*Phoenix instrument GmbH, Vokietija*)
- Mikrocentrifūga „Velocity“ 13 μ (*Dynamica, JK*)
- Vienkartinės kiuvetės (*Brand, Vokietija*)
- Mikromėgintuvėliai 1,5ml ir 2ml tūrio
- Keičiamo tūrio pipetės 20-200ml ir 100-1000ml. (*Socorex, Šveicarija*)
- Šlifinės skaidraus stiklo matavimo kolbutės stikliniu dangčiu (*Brand, Vokietija*)
- Pastero pipetės
- Analizinės svarstyklės
- Laboratoriniai indai
- Dejonizuotas vanduo paruoštas vandens gryninimo įranga PURELAB[®] Flex-3, (Elga[®], JK).

2.3 Bendro antioksidacinio aktyvumo tyrimo metodų pasirinkimas

Nėra vieno universalaus metodo, kuriuo būtų galima įvertinti visų kraujo serume esančių antioksidantų poveikį prieš visus aptinkamus laisvuosius radikalus, pademonstruoti antioksidantų tarpusavio ryšį. Bendras antioksidacinis aktyvumas yra sudėtinis rodiklis, apimantis: 1) RDD/RAD gamybos slopinimą ir gebą juos neutralizuoti; 2) redukcinę galią; 3) pereinamųjų metalų surišimo gebą; 4) antioksidacinių fermentų aktyvinimą; 5) oksidacinių fermentų slopinimą [93]. Atitinkamai bendro antioksidacinio aktyvumo įvertinimui pasirinkti FRAP ir Tween 80 tyrimo metodai dėl skirtingų reakcijų mechanizmų su įvairiais laisvaisiais radikalais.

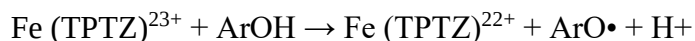
Svarbu paminėti, kad taikant FRAP metodą – glutationas, antioksidacinėmis savybėmis nepasižymi. Antioksidantai, kurių veikimas paremtas vandenilio atomo perdavimo reakcijomis (karotenoidai), FRAP metodu taip pat negali būti nustatyti. Tween 80 oksidacijos tyrimo metu išmatuojamas malonaldehididas (MDA) esantis mėginyje, susidarantis dėl lipidų peroksidacijos, taip išmatuojamos kiti lipidų skilimo produktai – MDA, lipidų alkoholiai, aldehidai (4-alkenaliai, 4-nonenalis) [94].

2.4 Bendrojo antioksidacinio aktyvumo tyrimas FRAP metodu

FRAP metodu įvertinamas antioksidantų gebėjimas rūgštinėje terpėje redukuoti geležies 2,4,6-tripiridyl-s-triazino $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ kompleksą į intensyviai mėlynos spalvos $[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ kompleksą [93].

FRAP metodu bendras antioksidacinis aktyvumas įvertinamas spektrofotometriškai. Su SET reakcijomis susijęs tirpalo absorbcijos padidėjimas išmatuojamas esant 593 nm bangos ilgiui. Gautos reikšmės palyginamos su etaloniniu divalentės geležies jonų tirpalu ir apskaičiuojama FRAP reikšmė. FRAP metodui būtinos rūgštinės (pH 3,6) sąlygos, kad nesusidarytų $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$ komplekso nuosėdos [93]. Rezultatų interpretavimas grindžiamas hipoteze, kad antioksidantų gebėjimas redukuoti geležies jonus atspindi jų gebėjimą sumažinti RDD kiekį [95].

FRAP reagentas paruošiamas sumaišius acetatinio buferio, TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazino) ir geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalus santykiu 10:1:1. Susidariusiam Fe (TPTZ)^{23+} kompleksui sąveikaujant su antioksidantais rūgštinėje terpėje (pH=3,6) įvyksta geležies redukcija. Fe^{3+} prisijungia antioksidanto elektroną ir redukuojasi į Fe^{2+} , kuri su TPTZ reagentu sudaro mėlynos spalvos kompleksinę Fe(TPTZ)^{22+} junginį:

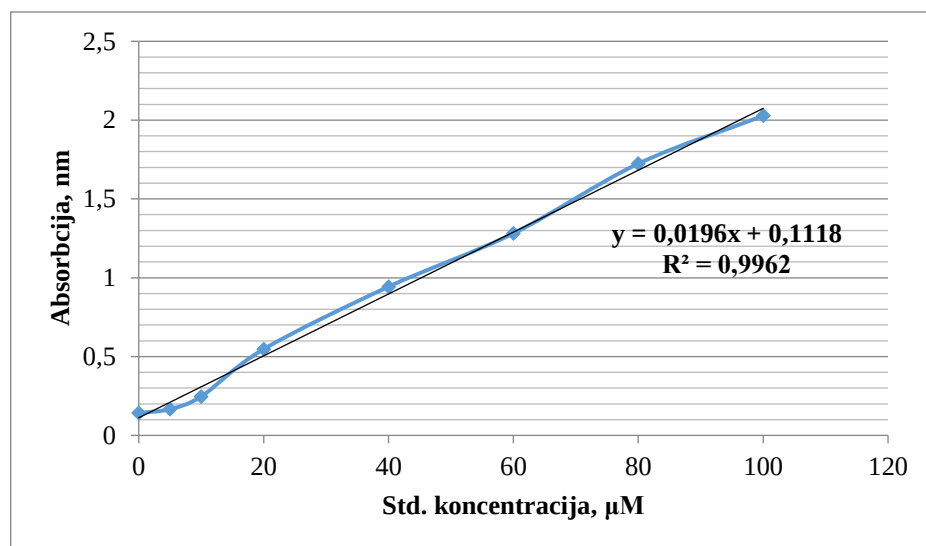


Redukcinio aktyvumo nustatymas FRAP metodu naudojami reagentai:

- Darbinis FRAP reagentas. Ruošiamas sumaišius acetatinio buferio, TPTZ ir geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalus santykiu 10:1:1.
- Acetatinio buferio tirpalas. Gaminamas 1000 ml kolboje iš 3,1 g natrio acetato miltelių, 16 ml ledinės acto rūgšties ir skiedžiant išgrynintu vandeniu iki 1000 ml žymės.
- 10 mM koncentracijos TPTZ tirpalas. Ruošiamas į 1000 ml kolbutę įpilant 3,4 ml koncentruotos vandenilio chlorido rūgšties ir praskiedžiant distiliuotu vandeniu iki žymės. Gautame tirpale ištirpinama 3,123 g TPTZ miltelių.
- Geležies (III) chlorido heksahidrato tirpalas. Ruošiamas 0,5406 g geležies (III) chlorido heksahidrato miltelių ištirpinant distiliuotame vandenyje 100 ml kolboje.

Tiriamieji tirpalai ruošiamas į 2 ml darbinio FRAP tirpalo įpilant 100 µl tiriamojo plazmos ir 900 µl išgryninto vandens. Palyginamasis tirpalas ruošiamas į 2 ml darbinio FRAP tirpalo įpilant 1 ml vandens. Gauti tirpalai sumaišomi ir laikomi kambario temperatūroje tamsioje vietoje. Po 30 minučių inkubacijos spektrofotometru išmatuojamas tirpalų absorbcijos dydis, esant 593 nm bangos ilgiui.

Gauti duomenys palyginami su FeSO_4 standartinių tirpalų kalibracine kreive (pav. 4, 5).



4 Pav. FeSO_4 standartinių tirpalų kalibracinė kreivė



5 Pav. Kalibracinės kreivės tirpalai

Bendras antioksidacinis aktyvumas apskaičiuojama pagal formulę:

$$\text{FRAP reikšmė (mėginio)} = \frac{\text{Abs(mėginio)} \times \text{FRAP reikšmė (standarto)}}{\text{Abs (standarto)}}$$

Pradinis FeSO₄ tirpalas ruošiamas 2,78g g FeSO₄ ištirpinant 1000 ml kolbutėje. Atliekamas 1/10 skiedimas gaunant 0,001 M koncentracija. Iš gauto pradinio FeSO₄ tirpalo ruošiami 0 μM, 5 μM, 10 μM, 20 μM, 40 μM, 60 μM, 80 μM, 100 μM koncentracijos darbiniai tirpalai.

6 lentelė. Kalibracinės kreivės sudarymo schema

	1	2	3	4	5	6	7	8
H₂O (μL)	1000	985	970	940	880	820	760	700
1mM Std (μL)	0	15	30	60	120	180	240	300
FRAP (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Std konc. (μM)</i>	<i>0</i>	<i>5</i>	<i>10</i>	<i>20</i>	<i>40</i>	<i>60</i>	<i>80</i>	<i>100</i>

FeSO₄ kalibracinė kreivė sudaroma į mėgintuvėlius su 2 ml FRAP darbinio tirpalo pridėjus skirtingų koncentracijų geležies (II) darbinių tirpalų ir vandens. Po 30 minučių inkubacijos kambario temperatūroje tamsioje vietoje išmatavus tirpalų absorbciją, esant 593 nm bangos ilgiui.

Nepaisant rūgštinės (pH 3,6) terpės (fiziologinėmis sąlygomis pH 7,4) FRAP metodas plačiai taikomas maisto ir augalų ekstraktuose, plazmoje ir kituose biologiniuose skysčiuose esančių junginių redukcinei galiai įvertinti FRAP metodas yra paprastas, palyginti nebrangus, nereikia specialios aparatūros.

2.5 Bendrojo antioksidacinio aktyvumo tyrimas Tween 80 oksidacijos testu

Mėginių bendras antioksidacinis aktyvumas nustatytas remiantis L. Galaktionovos su bendraautoriais metodika [82]. Bendras antioksidacinis aktyvumas nustatytas išmatuojant 2-tiobarbiturinės rūgšties reaktyviasias medžiagas po Tween 80 oksidacijos, spektrofotometriniu būdu λ=532 nm bangos ilgyje. [96]

Serumo antioksidantai slopina Fe²⁺/ askorbato sukeltą Tween 80 oksidaciją, dėl to sumažėja TBARS koncentracija. [97]

Šis tyrimo metodas - laisvųjų radikalų žalos kiekybinis įvertinimas. Lipidų pažeidimas laisvaisiais radikalais sukelia MDA gamybą, kuris reaguoja su tiobarbiturine rūgštimi (TBA) esant aukštai temperatūrai ir rūgštingumui, todėl reakciją galima įvertinti spektrofotometriškai [98]

Reakcijai reikalingi reagentai:

- 1% Tween 80[®]
- 1 mM vandeninis geležies (II) sulfatas
- 10 mM vandeninė askorbo rūgštis
- 40% trichloracto rūgštis
- 0,25% vandeninė tiobarbitūrinė rūgštis

7 lentelė. Tween 80 oksidacijos testui naudojami reagentai

Tween 80	Tai nejoninės paviršinio aktyvumo medžiagos (PAM), riebalų rūgščių ir daugiaatomio alkoholio sorbitolio polietilenglikolio esteris, sudėtyje turintis oleino rūgšties. Labai tirpus vandenyje, spalva varijuoja nuo geltonos iki oranžinės, skaidrus, klampus, aliejingas skystis, specifinio kvapo. PAM yra mažai jautrio silpnoms rūgštims ir bazėms, temperatūros pokyčiams. Oleino rūgšties esteriai yra jautrūs oksidacijai [99].
Geležies (II) sulfatas	Geležies chelatoriai veikia kaip antioksidantai ir suriša reaktyvias deguonies formas [100].
Askorbo rūgštis	Veikia kaip fermentinis kofaktorius daugeliui fermentų, būdamas elektronų donoru monooksigenazėms ir dioksigenazėms. Askorbo rūgštis taip pat yra stiprus antioksidantas, ypač veikiant reaktyvias deguonies formas [101].
Trichloracto rūgštis	Dalyvauja baltymų nusodinime [102].
Tiobarbitūrinė rūgštis	Naudojama lipidų hidroperoksidų ir lipidų oksidacijos aptikimui [103].

Tyrimo eiga:

1. Į mėgintuvėlį supylus 2 ml 1% Tween 80[®] tirpalo, 0,2 ml 1 mM vandeninio geležies (II) sulfato, 0,2 ml 10 mM vandeninės askorbo rūgšties ir 0,2 ml tiriamosios medžiagos, mėginys inkubuojamas 48 val. 40°C temperatūroje. Reakcijos kontrolei biologinė medžiaga pakeičiama vandeniu.
2. Po inkubacijos, mėginį atvėsinus iki kambario temperatūros 2 ml mišinio skiedžiami 1 ml 40% trichloracto rūgštimi ir 1 val laikomi kambario temperatūroje.
3. Po 1 val. mėginiai centrifuguojami 15 min. 8000 aps/min. greičiu.
4. Vėliau 1 ml supernatanto skiedžiamas 2 ml 0,25% vandeniniu tiobarbitūrinės rūgšties tirpalu ir virinamas 15 min.
5. Atvėsusio mišinio optinis tankis matuojamas spektrofotometru $\lambda=532$ nm bangos ilgyje.

Bendras antioksidacinis aktyvumas apskaičiuojamas pagal formulę:

$$(E_{\text{kontrolės}} - E_{\text{tiriamojo}}) / E_{\text{kontrolės}} \cdot 100,$$

$E_{\text{kontrolės}}$ – kontrolės mišinio optinis tankis,

$E_{\text{tiriamojo}}$ – tiriamosios medžiagos mėginio optinis tankis.

BAA išreikštas slopinimo procentais.

Bendro antioksidacinio aktyvumo nustatymas Tween 80 metodu plačiai naudojamas žmogaus antioksidacinės sistemos įvertinimui kraujyje, taip pat augalinėje žaliavoje, gyvūnuose ir gyvūninės kilmės maisto produktuose bei kaip žymuo oksidacinio streso įvertinimui.

2.6 Psichosocialinio streso įvertinimas klausimynu

Psichosocialinis stresas įvertintas naudojant validuotą streso vertinimo klausimyną [104] (Priedas Nr.1). Įvertinti kriterijai pateikiami 8 lentelėje:

8 lentelė. Psichosocialinio streso įvertinimo kriterijai

Kriterijus		Taškų intervalas	Reikšmė
Darbo aplinka	Psichologiniai poreikiai	5-20	Didelė vertė – mažesnis poreikių patenkinimas
	Sprendimų priėmimo galimybės	6-24	Didelė vertė – didesnės galimybės
	Įtampa darbe	0,2-3,3	Didelė vertė – didesnė įtampa
Socialinė parama	Socialinė parama darbe	8-32	Didelė vertė – didesnė parama
	Emocinė parama	0-6	Didelė vertė – didesnė parama

	Socialinė integracija	6-36	Didelė vertė – didesnė integracija
Asmenybės bruožai	Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškai įvykiais	7-28	Didelė vertė- geresni gebėjimai
	Savigarba	10-40	Didelė vertė – didesnė savigarba
	Vidinė darna	19-91	Didelė vertė – didesnė darna
	Priešiškumas	48-192	Didelė vertė – mažesnis priešiškumas
	Įsitraukimas	29-116	Didelė vertė – didesnis įsitraukimas
	Išsekimas	19-39	Didelė vertė – didelis išsekimas
Depresija		0-39	Didelė vertė – didesnė depresijos rizika

2.6 Statistinė duomenų analizė

Statistinė duomenų analizė buvo atlikta naudojant Microsoft Office Excel 2010 ir R (versija 2.4-2) programas. Tyrime naudotų statistinių metodų apibendrinimas pateikiamas sekančioje lentelėje. Rezultatai buvo laikomi statistiškai reikšmingais, jei $p < 0,05$.

9 lentelė. Tyrime naudoti statistiniai metodai

Metodas	Taikymo tikslai
Aprašomoji statistika	Įvertinti tyrime naudojamų duomenų padėties ir sklaidos charakteristikas: vidurkis, mediana, standartinis nuokrypis, kvartilai
Dažnių lentelės	Palyginti tiriamųjų bendrą antioksidacinį aktyvumą skirtingo lygio stresą patiriančiose grupėse
Shapiro - Wilk testas	Išsiaiškinti, ar duomenys pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį
Studento t-testas	Palyginti antropometrinių duomenų, hematologinių rodiklių, MDA vidurkių skirtumų statistinį reikšmingumą žemo ir aukšto streso tiriamųjų grupėse

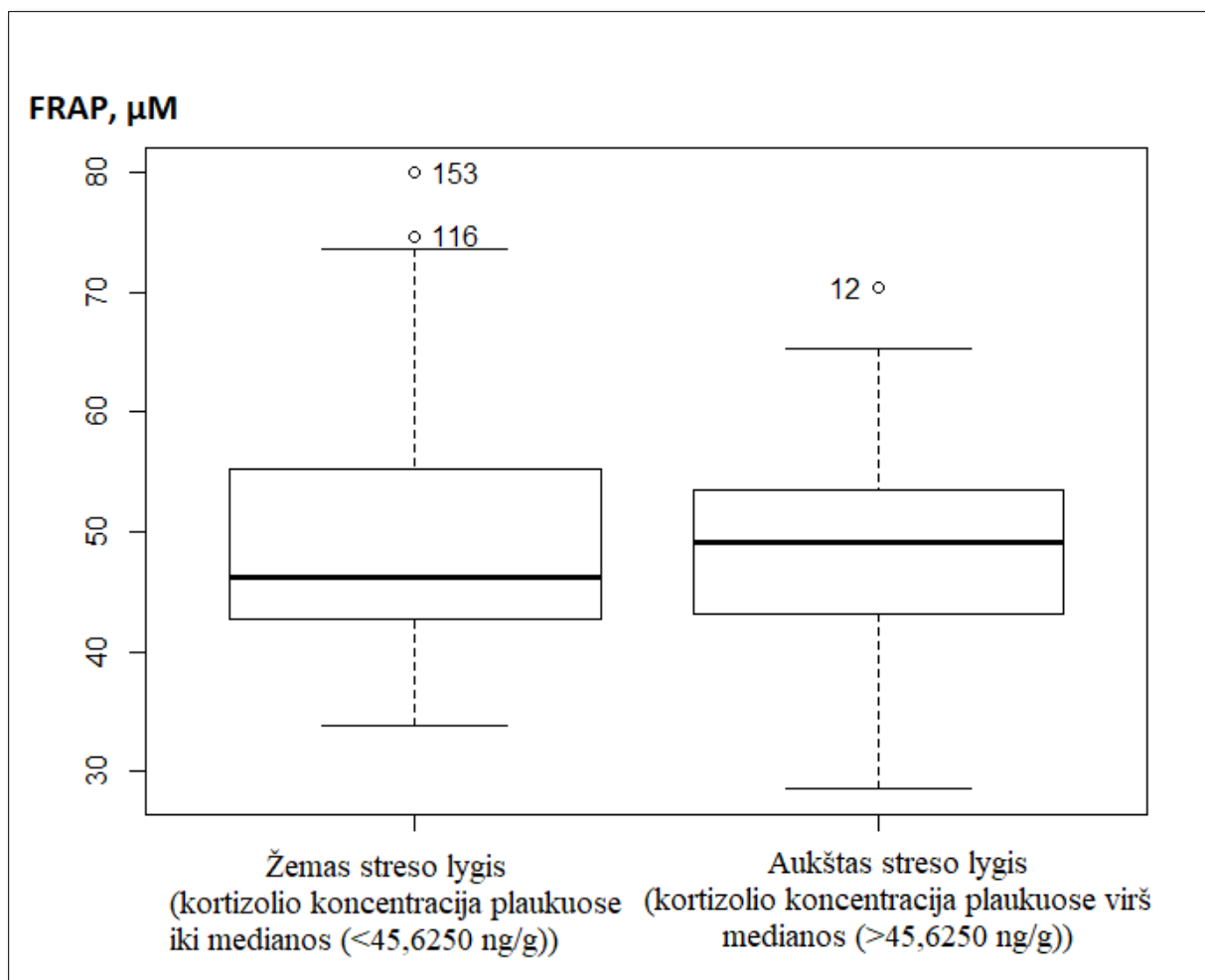
Mann-Whitney U testas	Palyginimui tarp biocheminių ŠKL rizikos rodiklių duomenų, leukocitų, karotenoidų, psichosocialinio streso įsivertinimo žemo ir aukšto streso tiriamųjų grupėse
Chi kvadrato (χ^2) kriterijus	Vertinamas statistinis ryšys tarp apskaičiuotų kokybinių anketinių duomenų rodiklių žemo ir aukšto streso tiriamųjų grupėse
Pirsono ir Spirmeno koreliacijos koeficientas	Ryšio stiprumo nustatymui apskaičiuotas Pirsono (kai yra duomenų pasiskirstymas pagal normalųjį skirstinį) arba Spirmeno (kai nėra duomenų pasiskirstymo pagal normalųjį skirstinį) koreliacijos koeficientas, kuris parodo, kokio stiprumo yra ryšys. Apskaičiavus koreliacijos koeficientus, taip pat, įvertintas jų statistinis reikšmingumas

3. TYRIMO REZULTATAI

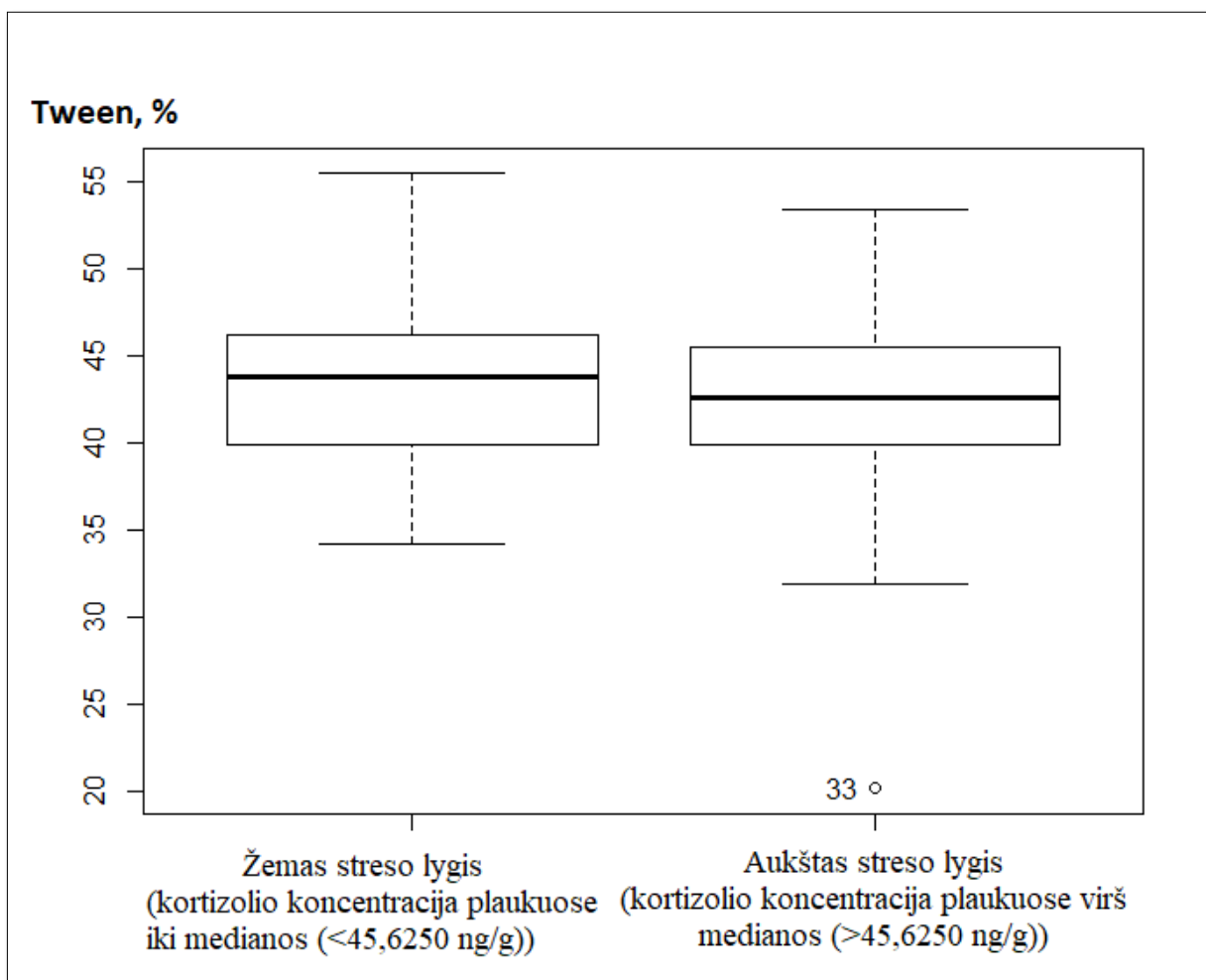
3.1 Bendro antioksidacinio aktyvumo skirtumai skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu tirtas tiriamųjų kraujo serumo bendras antioksidacinis aktyvumas žemo ir aukšto streso lygio grupėse. Streso lygis įvertintas pagal kortizolio koncentraciją plaukuose: asmenys, kurių kortizolio koncentracija buvo iki medianos ($<45,6250\text{ ng/g}$) – įvardijami kaip patiriantis mažą streso lygį, asmenys, kurių kortizolio koncentracija virš medianos įvardijami kaip patiriantys aukštą streso lygį.

Bendro antioksidacinio aktyvumo mediana išmatuota FRAP tyrimo metodu buvo $47,68\text{ }\mu\text{M}$, Tween 80 oksidacijos testu $43,37\%$ (6, 7 paveiksliukai).



6 Pav. Bendras antioksidacinis aktyvumas išmatuotas FRAP tyrimo metodu tarp skirtingo streso lygio grupių pagal kortizolio koncentraciją plaukuose



7 Pav. Bendras antioksidacinis aktyvumas išmatuotas Tween 80 oksidacijos testu tarp skirtingo streso lygio grupių pagal kortizolio koncentraciją plaukuose

Vidutinis bendras antioksidacinis aktyvumas išmatuotas FRAP tyrimo metodu yra didesnis tiriamųjų grupėje, kurie patiria mažesnę stresą, nei vidutinis bendras antioksidacinis aktyvumas patiriančiųjų didesnę stresą lygį. Vidutinis bendras antioksidacinis aktyvumas išmatuotas Tween 80 oksidacijos testu taip pat rodo, kad patiriančiųjų didesnę stresą BAA yra mažesnis, nei patiriančiųjų mažesnę stresą lygį (10 lentelė).

10 lentelė. Bendro antioksidacinio aktyvumo skirtumai skirtingo streso lygio grupėse

BAA tyrimo metodas	Tiriamoji grupė	Vidurkis	SN	Mediana	Kvartiliai (Q1-Q3)
FRAP (μM)	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))	49,17	9,79	46,20	42,82 – 55,10
Tween 80 (%)		43,59	4,40	43,78	39,88 – 46,22
FRAP (μM)	Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))	48,96	9,00	49,14	43,12 – 53,38
Tween 80 (%)		42,86	5,14	42,63	39,99 – 45,44

SN – standartinis nuokrypis

3.2 Antropometrinių duomenų skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu išmatuoti antropometriniai duomenys žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (11 lentelė). Nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad žemo streso lygio tiriamieji pasižymi didesniu ūgiu, nei aukšto streso lygio tiriamieji, tuo tarpu amžius, svoris ir liemens apimtis tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

11 lentelė. Antropometrinių duomenų skirtumai skirtingo streso lygio grupėse

Rodiklis	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			t	df	p
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.			
Amžius (m)	37,28	8,88	35,00	39,07	8,70	40,00	-1,299	161	0,196
Svoris (kg)	85,63	14,38	83,45	87,25	12,93	85,20	-0,755	160	0,451
Ūgis (cm)	183,47	6,39	184,00	181,45	5,81	181,50	2,110	161	0,036
Liemens apimtis (cm)	91,09	11,94	89,00	91,52	10,31	89,50	-0,241	159	0,810

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

Kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo ir antropometrinių duomenų sąsajoms įvertinti atlikta koreliacinė analizė. Rezultatai analizuoti žemo (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250ng/g)) ir aukšto (kortizolio koncentracija

plaukuose virš medianos (>45,6250ng/g)) streso lygio grupėse, kur bendras antioksidacinis aktyvumas įvertintas FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais (12 lentelė).

Žemo streso lygio tiriamojame grupėje stebima statistiškai reikšminga teigiama koreliacija tarp bendro antioksidacinio aktyvumo (įvertinto FRAP tyrimo metodu) ir liemens apimties bei svorio. Taip pat stebima statistiškai reikšminga teigiama koreliacija aukšto streso lygio tiriamojame grupėje tarp bendro antioksidacinio aktyvumo (įvertinto Tween 80 oksidacijos testu) ir ūgio.

Vertinant amžiaus įtaką bendram antioksidaciniam aktyvumui statistiškai reikšmingų sąsajų nerasta.

12 lentelė. Bendro antioksidacinio aktyvumo ir antropometrinių duomenų sąsaja

Tiriamoji grupė	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))				Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			
	FRAP (μM)		Tween 80 (%)		FRAP (μM)		Tween 80 (%)	
BAA tyrimo metodas	r	p	r	p	r	p	r	p
Amžius (m)	0,0376	0,74	-0,0126	0,09	0,0335	0,77	-0,0955	0,40
Liemens Apimtis (cm)	0,3667	0,009	0,0223	0,84	0,1797*	0,11*	-0,2091	0,06
Svoris (kg)	0,3381	0,002	-0,0783	0,49	0,0386	0,73	-0,1838	0,10
Ūgis (cm)	0,1276	0,25	0,1503*	0,18*	0,0091*	0,93*	0,2862	0,01

- Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$) ; *- Pirsono koreliacija

3.3 Biocheminių ŠKL rizikos rodiklių skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu įvertinti tiriamųjų kraujo biocheminiai ŠKL rizikos rodikliai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (13 lentelė). Statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo nustatyta, matoma, kad biocheminiai ŠKL rizikos rodikliai tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų nesiskyrė.

13 lentelė. Biocheminių ŠKL rizikos duomenų skirtumai skirtingo streso lygio grupėse

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			<i>U</i>	<i>p</i>
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.		
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	5,03	0,98	5,00	5,23	0,99	5,02	2924,0	0,285
Triacilgliceroliai (mmol/l)	1,55	1,33	1,16	1,52	1,00	1,21	3120,5	0,686
DTL cholesterolis (mmol/l)	1,23	0,25	1,21	1,23	0,27	1,16	3008,5	0,434
MTL cholesterolis (mmol/l)	3,11	0,80	3,10	3,32	0,76	3,22	2692,0	0,064
CRB (mg/l)	1,75	3,83	0,60	1,04	1,33	0,66	3168,5	0,809
Gliukozė (mmol/l)	5,28	0,51	5,27	5,31	0,49	5,24	3090,5	0,613

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

Kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo ir biocheminių ŠKL rizikos apykaitos rodiklių sąsajai įvertinti atlikta koreliacinė analizė. Rezultatai analizuoti žemo (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250ng/g)) ir aukšto (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250ng/g)) streso lygio grupėse, kur bendras antioksidacinis aktyvumas įvertintas FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais (14 lentelė).

Nustatyta, kad tiriamųjų patiriančių mažesnį streso lygį bendras antioksidacinis aktyvumas (įvertintas FRAP tyrimo metodu) statistiškai reikšmingai teigiamai koreliuoja su bendro cholesterolio ir triacilglicerolių koncentracijomis. Iš koreliacinė analizės duomenų matyti, kad tiriamųjų patiriančių žemą streso lygį bendras antioksidacinis aktyvumas (įvertintas Tween 80 oksidacijos testu) statistiškai reikšmingai neigiamai koreliuoja su gliukozės ir CRB koncentracijomis.

Tiriamųjų patiriančių aukštą streso lygį bendras antioksidacinis aktyvumas (įvertintas FRAP tyrimo metodu) statistiškai reikšmingai teigiamai koreliuoja su bendrojo cholesterolio, triacilglicerolių ir gliukozės koncentracijomis.

Aukšto streso lygio tiriamosios grupės bendras antioksidacinis aktyvumas (įvertintas Tween 80 oksidacijos testu) statistiškai reikšmingai neigiamai koreliuoja su bendro cholesterolio, MTL cholesterolio, triacilglicerolių ir CRB koncentracijomis.

14 lentelė. Bendro antioksidacinio aktyvumo ir lipidų apykaitos rodiklių sąsaja

Tiriamoji grupė	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))				Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			
	FRAP (μM)		Tween 80 (%)		FRAP (μM)		Tween 80 (%)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Bendrasis cholesterolis (mmol/l)	0,2671	0,01	-0,1405*	0,21*	0,2376*	0,03*	-0,2885	0,01
DTL cholesterolis (mmol/l)	-0,1076	0,34	0,0203*	0,85*	-0,1969	0,08	0,2159	0,06
MTL cholesterolis (mmol/l)	0,1068	0,34	-0,0702	0,53	0,1639*	0,15*	-0,2414	0,03
TAG (mmol/l)	0,3667	0,0008	-0,1570	0,16	0,2784	0,01	-0,4109	0,0002
Gliukozė (mmol/l)	0,0581	0,60	-0,2184	0,05	0,2501	0,02	-0,0743	0,52
CRB (mg/l)	0,1027	0,36	-0,2379	0,03	-0,1969	0,21	-0,2818	0,01

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); *- Pirsono koreliacija

3.4 Hematologinių rodiklių skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu palyginti hematologiniai rodikliai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose. Nustatyta, kad leukocitų ir jų rūšių (neutrofilų, limfocitų, monocitų) bei trombocitų skaičius yra normos ribose. Rezultatai rodo, kad didesnę stresą patiriančioje grupėje stebimas visų rodiklių skaičiaus padidėjimas (15 lentelė).

Nustatytas tik vienas statistiškai reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad aukšto streso lygio tiriamieji pasižymi didesniu neutrofilų kiekiu nei žemo streso lygio tiriamieji. Tuo tarpu leukocitų, limfocitų, monocitų ir trombocitų kiekiai tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

15 lentelė. Hematologinių rodiklių skirtumai skirtingo streso lygio grupėse

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			<i>U</i> arba <i>t</i>	<i>p</i>
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.		
Leukocitai 10e9/L	5,48	1,22	5,42	5,89	1,50	5,70	<i>U</i> = 2738,5	0,090
Neutrofilai 10e9/L	2,60	0,91	2,36	2,87	0,98	2,83	<i>U</i>= 2620,5	0,036
Limfocitai 10e9/L	2,16	0,59	2,16	2,27	0,64	2,18	<i>U</i> = 3050,5	0,522
Monocitai 10e9/L	0,50	0,16	0,46	0,54	0,19	0,50	<i>U</i> = 2832,0	0,168
Trombocitai 10e9/L	204,58	35,03	207,50	216,22	48,92	211,00	<i>t</i> =-1,734	0,085

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

Kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo ir hematologinių rodiklių sąsajai įvertinti atlikta koreliacinė analizė. Rezultatai analizuoti žemo (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250ng/g)) ir aukšto (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250ng/g)) streso lygio grupėse, kur bendras antioksidacinis aktyvumas įvertintas FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais (16 lentelė). Statistiškai reikšmingų koreliacijų nerasta.

16 lentelė. Bendro antioksidacinio aktyvumo ir hematologinių rodiklių sąsaja

Tiriamoji grupė	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))				Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			
	FRAP (μM)		Tween 80 (%)		FRAP (μM)		Tween 80 (%)	
BAA tyrimo metodas	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Leukocitai, 10e9/l	0,1304	0,25	-0,2249	0,25	0,0128	0,91	-0,1606	0,16
Neutrofilai, 10e9/l	0,0029	0,97	-0,1814	0,97	0,0257	0,82	-0,1299	0,25
Limfocitai, 10e9/l	0,1798	0,11	-0,2132 *	0,06*	0,1266	0,27	-0,0547	0,63
Monocitai, 10e9/l	0,0925	0,41	-0,2452	0,41	-0,1103	0,33	-0,0836	0,46
Trombocitai, 10e9/l	-0,0325	0,70	-0,1228 *	0,28*	-0,1155	0,31	-0,2031	0,07

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); *- Pirsono koreliacija

3.5 Karotenoidų ir malondialdehido koncentracijų skirtumai ir sąsajos skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu įvertinti tiriamųjų MDA ir karotenoidų koncentracijų skirtumai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (17 lentelė). Nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad aukšto streso lygio tiriamieji pasižymi didesniu α -karoteno kiekiu nei žemo streso tiriamieji. Tuo tarpu MDA koncentracija tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

17 lentelė. Karotenoidų, malondialdehido koncentracijų skirtumai skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			<i>U</i> arba <i>t</i>	<i>p</i>
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.		
Luteinas $\mu\text{mol/l}$	0,35	0,21	0,32	0,33	0,14	0,32	2416,0	0,74
Zeaksantinas $\mu\text{mol/l}$	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	2406,0	0,71
Kantaksantinas $\mu\text{mol/l}$	0,04	0,04	0,01	0,05	0,04	0,06	2081,0	0,08
β -kriptoksantinas $\mu\text{mol/l}$	0,12	0,12	0,08	0,12	0,09	0,09	2225,0	0,26
α -karotenas $\mu\text{mol/l}$	0,28	0,19	0,25	0,33	0,19	0,30	2036,0	0,05
β -karotenas $\mu\text{mol/l}$	0,67	0,37	0,58	0,76	0,39	0,65	2089,0	0,09
Likopenas $\mu\text{mol/l}$	0,57	0,24	0,52	0,55	0,28	0,50	2271,0	0,35
Bendra karotenoidų koncentracija $\mu\text{mol/l}$	2,04	0,89	1,89	2,15	0,78	2,05	2213,0	0,24
MDA, $\mu\text{g/l}$	102,27	25,43	101,57	105,57	33,38	99,35	$t=-0,674$	0,50

 - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

Taip pat nustatytos BAA ir tiriamųjų MDA, karotenoidų koncentracijų sąsajos žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse (18 lentelė). Atlikus koreliacinę analizę aptikta statistiškai reikšminga neigiama koreliacija tarp BAA išmatuoto Tween 80 oksidacijos testu ir abiejų streso lygio grupių.

18 lentelė. Bendro antioksidacinio aktyvumo ir karotenoidų koncentracijos, MDA sąsajos

Tiriamoji grupė	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))				Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			
	FRAP (μM)		Tween 80(%)		FRAP (μM)		Tween 80(%)	
BAA tyrimo metodas	r	p	r	p	r	p	r	p
Luteinas μmol/l	-0,1142	0,32	0,1300	0,26	0,0745	0,57	0,1041	0,43
Zeaksantinas μmol/l	-0,1650	0,15	0,0551	0,63	-0,0069	0,95	0,1139	0,39
Kantaksantinas μmol/l	0,0567	0,62	0,1105	0,34	0,0080	0,95	0,0420	0,75
β-kriptoksantinas μmol/l	-0,0165	0,88	0,0011	0,99	0,0314	0,81	0,0507	0,70
α-karoteninas μmol/l	-0,1369	0,23	0,0192	0,86	0,1485	0,26	0,2080	0,11
β -karoteninas μmol/l	-0,2065	0,07	0,0882	0,44	0,0008	0,99	0,2033	0,12
Likopenas μmol/l	0,1161	0,31	0,1772	0,12	-0,0852	0,52	-0,0893	0,50
Bendra karotenoidų koncentracija μmol/l	-0,1256	0,27	0,1513	0,19	0,0256	0,84	0,1280	0,33
MDA, μg/l	0,1020	0,37	-0,2329 *	0,04	0,1957	0,13	-0,2680	0,04

■ - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); *- Pirsono koreliacija

3.6 Psichologinio streso vertinimo klausimyno rezultatai

Pildydami psichologinio streso vertinimo klausimyną, tiriamieji atsakinėjo į klausimus apie savo darbo aplinką, socialinę paramą, asmenybės bruožus, įvertintas depresijos rodiklis.

Iš tiriamųjų atsakymų matyti, kad tiriamieji nėra stipriai įsitempę, jaučia paramą iš aplinkos, gebėjimai susidoroti su gyvenimiškais įvykiais geri. Tiriamieji pasižymi didele savigarpa, vidine darna, tačiau yra šiek tiek išsekę ir priešiški. Depresijos rodiklis yra mažas. Apibendrinti klausimyno rezultatai pateikiami 19 lentelėje.

19 lentelė. Psichologinio streso vertinimo klausimyno rezultatai

	Vidurkis ± SN	Mediana		Vidurkis ± SN	Mediana
Darbo aplinka:			Asmenybė:		
Psichologiniai poreikiai	13,33 ± 2,53	13,50	Gebėjimai susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	23,92 ± 3,11	24

Sprendimų priėmimo galimybės	19,53 ± 2,5	20	Savigarba	31,43 ± 4,43	31
Įtampa darbe	0,69 ± 0,17	0,67	Vidinė darna	64,17 ± 9,66	64
Socialinė parama:			Priešiškumas	130,04 ± 17,98	132
Socialinė parama darbe	24,20 ± 3,6	24	Imersija (įsitraukimas)	72,56 ± 10,54	72
Emocinė parama	4,2 ± 1,14	4	Išsekimas	31,25 ± 6,67	31
Socialinė integracija	19,64 ± 5,5	19	Depresija	3,10 ± 3,36	2

SN – standartinis nuokrypis

3.7 Kiekybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu apskaičiuoti kiekybinių anketinių duomenų rodikliai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (20 lentelė). Statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo nustatyta; vaikų skaičius, asmenų skaičius, darbo valandų skaičius, papildomo darbo valandų skaičius, išgeriamos kavos puodelių skaičius ir surūkomų cigarečių skaičius statistiškai reikšmingai tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų nesiskiria.

20 lentelė. Kiekybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			<i>U</i>	<i>p</i>
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.		
Vaikų skaičius	1,68	1,18	2,00	1,66	1,11	2,00	1664,0	0,978
Asmenų skaičius šeimoje	3,15	1,37	4,00	3,23	1,43	4,00	1635,0	0,846
Darbo valandų skaičius per sav.	44,27	15,42	45,00	42,82	11,98	42,00	2786,0	0,293
Papildomo darbo valandų skaičius per sav.	2,72	7,77	0,00	3,19	8,29	0,00	3006,0	0,584

Kavos puodelių skaičius per sav.	11,43	10,62	12,00	12,99	10,07	14,00	2916,5	0,330
Cigarečių skaičius per d. per 12 mėn.	1,22	4,13	0,00	2,81	6,29	0,00	2683,5	0,114

■ - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

3.8 Kokybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu įvertinti kokybinių anketinių duomenų rodikliai žemo ir aukšto streso lygio grupėse pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (21 lentelė). Nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad fizinės veiklos darbe grupės skiriasi tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų – nustatyta, kad mažo aktyvumo tiriamųjų (1-2 grupės) daugiau yra tarp žemo streso lygio tiriamųjų, nei tarp aukšto streso lygio tiriamųjų. Tuo tarpu žemo ir aukšto streso tiriamųjų civilinė padėtis, gyvenimas vieniems, atlyginimas, išsilavinimas, naktinis darbas, papildomas darbas, fizinė veikla laisvalaikio, rūkymas dabar ir anksčiau statistiškai reikšmingai nesiskiria.

21 lentelė. Kokybinių anketinių duomenų palyginimas skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse

		Žemas streso lygis		Aukštas streso lygis		χ^2	df	p
		N	Proc.	N	Proc.			
Civilinė padėtis	Vedę, turintys sugyventinį	58	73,4%	63	77,8%	2,653	3	0,448
	Nevedę	19	24,1%	15	18,5%			
	Išsiskyrę	1	1,3%	3	3,7%			
	Našliai	1	1,3%	0	0,0%			
Gyvena vieni	Ne	70	88,6%	74	91,4%	0,336	1	0,562
	Taip	9	11,4%	7	8,6%			
Atlyginimas	Iki 300 eur	2	2,5%	1	1,2%	0,700	2	0,705
	300-700 eur	10	12,7%	13	16,0%			
	>700 eur	67	84,8%	67	82,7%			
Išsilavinimas	Profesinis	0	0,0%	0	0,0%	3,088	2	0,214
	Vidurinis	5	6,3%	2	2,5%			
	Aukštesnysis	1	1,3%	4	4,9%			
	Aukštasis	73	92,4%	75	92,6%			
Naktinis darbas	Ne	70	88,6%	70	86,4%	0,175	1	0,676
	Taip	9	11,4%	11	13,6%			
Papildomas darbas	Ne	63	79,7%	60	74,1%	0,724	1	0,395
	Taip	16	20,3%	21	25,9%			

Fizinė veikla darbe	1 gr. (mažas aktyvumas)	59	74,7%	45	55,6%	10,041	3	0,018
	2 gr.	13	16,5%	28	34,6%			
	3 gr.	5	6,3%	8	9,9%			
	4 gr. (didelis aktyvumas)	2	2,5%	0	0,0%			
Fizinė veikla laisvalaikio	1 gr. (mažas aktyvumas)	19	24,4%	15	18,5%	0,859	3	0,835
	2 gr.	32	41,0%	36	44,4%			
	3 gr.	20	25,6%	23	28,4%			
	4 gr. (didelis aktyvumas)	7	9,0%	7	8,6%			
Rūkymas	Ne	67	84,8%	63	78,8%	0,979	1	0,322
	Taip	12	15,2%	17	21,3%			
Rūkymas anksčiau	Ne	41	51,9%	40	50,0%	0,057	1	0,811
	Taip	38	48,1%	40	50,0%			

■ - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$)

3.9 Psichosocialinio streso įsivertinimo rezultatai skirtingo streso lygio grupėse

Tyrimo metu apskaičiuoti psichosocialinio streso įsivertinimo rodikliai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėje pagal kortizolio koncentraciją plaukuose (22 lentelė). Nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad emocinės paramos vidurkiai tarp aukšto ir žemo streso lygio tiriamųjų skyrėsi – tiriamieji, pasižymintys aukštu streso lygiu, turi stipresnę emocinę paramą nei žemo streso lygio tiriamieji. Tuo tarpu kiti darbo aplinkos, socialinės paramos ir asmenybės bruožų rodikliai, kaip ir depresijos rizika tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų nesiskyrė.

22 lentelė. Psichosocialinio streso įsivertinimo rezultatai skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse

	Žemas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose iki medianos (<45,6250 ng/g))			Aukštas streso lygis (kortizolio koncentracija plaukuose virš medianos (>45,6250 ng/g))			<i>U</i>	<i>p</i>
	Vid.	SN	Med.	Vid.	SN	Med.		
<i>Darbo aplinka</i>								
Psichologiniai poreikiai	13,34	2,86	13,00	13,10	2,36	14,00	3110,5	0,863
Sprendimų priėmimo galimybės	19,48	2,46	20,00	19,78	2,23	20,00	2973,0	0,514
Įtampa darbe	0,70	0,18	0,68	0,67	0,16	0,67	3045,5	0,693

<i>Socialinė parama</i>								
Socialinė parama darbe	24,65	3,76	25,00	23,81	3,46	24,00	2586,0	0,062
Emocinė parama	3,96	1,11	4,00	4,32	1,10	4,00	2529,0	0,013
Socialinė integracija	19,97	5,50	20,00	19,68	5,35	19,00	3099,0	0,731
<i>Asmenybės bruožai</i>								
Gebėjimas susidoroti su gyvenimiškais įvykiais	23,66	3,19	24,00	24,04	3,25	25,00	2949,0	0,390
Savigarba	31,11	4,53	31,00	30,91	4,28	31,00	3045,5	0,598
Vidinė darna	63,22	10,44	64,00	64,96	8,97	66,00	2931,5	0,360
Priešiškumas	131,75	17,54	133,00	128,00	19,26	130,00	2856,0	0,241
Įsitraukimas	73,51	10,35	71,00	71,56	10,23	72,00	2951,0	0,396
Išsekimas	31,82	7,04	32,00	31,64	6,73	31,00	3090,5	0,813
Depresija	3,80	3,67	2,00	3,12	3,41	2,00	2820,5	0,150

■ - Statistiškai reikšmingas skirtumas (kai $p < 0,05$); SN – standartinis nuokrypis

3.10 Rezultatų aptarimas

Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo bendras antioksidacinis aktyvumas

Tiriamųjų bendras antioksidacinis aktyvumas įvertintas FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais. BAA mediana išmatuota FRAP tyrimo metodu buvo 47,68 μ M, Tween 80 oksidacijos testu 43,37%.

Tiriamosioje grupėje patiriančioje žemesnį streso lygį BAA buvo 46,20 μ M ir 43,78% atitinkamai FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais; grupėje patiriančioje didesnį streso lygį BAA buvo 49,14 μ M ir 42,63% atitinkamai FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais. Vidutinis bendras antioksidacinis aktyvumas išmatuotas FRAP ir Tween 80 oksidacijos testu rodo, kad patiriančiųjų didesnį stresą BAA yra mažesnis. Tyrimai rodo, kad padidėjusi kortizolio koncentracija, kuria įvertinamas streso lygis, yra siejama su sumažėjusiu bendru antioksidaciniu aktyvumu [105, 106]. Mokslinių tyrimų metu nustatyta, kad sumažėjęs bendras antioksidacinis aktyvumas taip pat siejamas su sutrikusia spermatozoidų funkcija [107], neurologiniais pakitimais insulto metu [108], padidėjusia rizika sirgti širdies ir kraujagyslių ligomis [109].

Įvertinus FRAP ir Tween 80 tyrimo metodų sąsajas su žemo ir aukšto streso lygio grupėmis, nustatyta reikšmingas skirtumas, kuris parodė, kad tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų reikšmingai skiriasi FRAP rodiklis – nustatyta, kad žemo streso lygio tiriamieji pasižymi reikšmingai aukštesniu FRAP rodikliu nei kad aukšto streso lygio tiriamieji, tuo tarpu Tween 80 rodiklis tarp aukšto ir žemo streso lygio tiriamųjų reikšmingai nesiskyrė.

Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo ir antropometrinių duomenų skirtumai ir sąsajos

Tyrimo metu išmatuoti antropometrinių duomenų skirtumai žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų grupėse, nustatyta, kad žemo streso lygio tiriamieji pasižymi didesniu ūgiu. Svarbu paminėti, kad plaukuose nustatytas kortizolio kiekis atspindi tik keletą pastarųjų mėnesių besitęsiantį stresą, tačiau literatūroje yra duomenų, kad augimo hormono nepakankamumas suaugusiesiems yra susijęs su padidėjusiu oksidaciniu stresu [110].

Vertinant antropometrinių duomenų sąsajas su BAA (įvertintu FRAP tyrimo metodu) kraujo serume matoma, kad tiriamojoje grupėje patiriančioje mažesnę stresą didėjant liemens apimčiai ir svoriui, didėja ir BAA. Tyrimai rodo, kad esant padidėjusiam svoriui bendras antioksidacinis aktyvumas mažėja [111]. Šio tyrimo atveju žemesnio streso lygio grupės tiriamųjų svoris yra mažesnis, nei patiriančiųjų aukšta streso lygį. R. Yang ir bendra autorių atlikto tyrimo metu nustatyta antioksidacinės sistemos įtaka lipidų metabolizmui. Nustatyta statistiškai reikšmingai teigiama koreliacija tarp BAA ir lipotroteinlipazės aktyvumo kraujyje ($r = 0.979$, $p < 0.05$) [112].

Vertinant amžiaus įtaką bendram antioksidaciniam aktyvumui sąsajų nerasta, nors literatūroje teigiama, kad su amžiumi laisvųjų radikalų kiekis didėja [28], tačiau tarp žemo ir aukšto streso lygio grupių amžiaus skirtumas nebuvo didelis.

Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo, biocheminių ŠKL rodiklių ir hematologinių rodiklių skirtumai ir sąsajos

Tiriamųjų patiriančių žemą streso lygį, kraujyje didėjant gliukozės ir CRB rodikliams bendras antioksidacinis aktyvumas mažėja, įvertintas Tween 80 oksidacijos testu. Hiperglikemija yra plačiai žinoma kaip padidėjusių laisvųjų radikalų koncentracijos priežastis [113]. Vertinant aukšto streso lygio grupės rezultatus nustatyta, kad didėjant bendrojo cholesterolio, MTL cholesterolio, triacilglicerolio ir CRB koncentracijoms, BAA mažėja. Kitų mokslininkų tyrimuose randami panašūs rezultatai. Bendras antioksidacinis aktyvumas didesnis

asmenų, kurių CRB mažesnis (0-4,1 mg/l), nei asmenų, kurių CRB didelis (4,2-27,8 mg/l). Suaktyvėjusi lipidų peroksidacija ir sumažėjęs antioksidacinių fermentų aktyvumas yra susiję su hiperlipidemija [114, 115].

Nustatyta, kad aukšto streso lygio tiriamieji pasižymi reikšmingai didesniu neutrofilų kiekiu nei kad žemo streso lygio tiriamieji. Moksliniuose tyrimuose minima, kad leukocitai gali prisidėti prie oksidacinio streso [116], aktyvuoti žmogaus neutrofilai gali naudoti mieloperoksidazę ir H₂O₂ nitritus verčiant azoto dioksido radikalais (NO₂ ·), taip prisidedant prie potencialiai kenksmingų junginių formavimosi.

Tiriamosios grupės asmenų kraujo serumo bendro antioksidacinio aktyvumo, MDA, karotenoidų koncentracijos skirtumai ir sąsajos

Tyrimo metu įvertinti karotenoidų koncentracijos skirtumai skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse. Aukšto streso lygio tiriamieji pasižymi reikšmingai didesniu α-karoteno kiekiu. Atlikti tyrimai rodo, kad α-karotenas slopina onkologinių ligų vystymąsi [117] žmogaus neuroblastomos ląstelių proliferaciją [118], gali būti vertinamas kaip aterosklerozės biožymuo [119]. Vyrauja ir priešinga nuomonė, daugelyje intervencinių tyrimų su terapinėmis sintetinių karotenoidų dozėmis nepavyko įrodyti naudos sveikatai. Vietoj to, jie rodo, kad padidėjo rizika susirgti širdies ir kraujagyslių ligomis [120], plaučių naviku [121, 122] arba insultu [123].

Vertinant malondialdehido ir bendro antioksidacinio aktyvumo (Tween 80) sąsają nustatyta, kad didėjant MDA koncentracijai BAA mažėja, nepriklausomai nuo streso lygio. Neigiama koreliacija tarp MDA ir BAA taip pat nustatyta pacientams sergantiems metaboliniu sindromu [124], ŽIV – infekuotiems pacientams [125], sergantiems 2 tipo cukriniu diabetu [126], sergant ateroskleroze [127]. Didesnė MDA koncentracija bei sumažėjusi antioksidacinė veikla, atspindi padidėjusį laisvųjų radikalų aktyvumą streso įtakoje ir įvairių ligų metu.

Psichosocialinio klausimyno rezultatai skirtingą streso lygį patiriančiose grupėse

Anketinės apklausos rezultatai rodo, kad tiriamieji nėra stipriai įsitempę, yra jaučiama parama iš aplinkos, susidoroti su gyvenimiškais įvykiais nėra sunku. Tiriamieji pasižymi didele savigarba, vidine darna, tačiau yra šiek tiek išsekę ir priešiški. Depresijos rodiklis yra mažas. Lyginant šio projekto dalyvių rezultatus su LiVicordia studija [104], pastebima, kad šio projekto dalyviai labiau įsitraukę į darbą, nes jaučia didesnę poreikį ir nors patiria didesnę įtampą, tačiau jaučia stipresnę socialinę paramą. Bėgant metams, padidėjo savigarba, sumažėjo išsekimo rodiklis. Tiriamųjų depresijos lygmuo sumažėjo.

Vaikų skaičius, darbo valandų skaičius, išgeriamos kavos puodelių skaičius ir surūkomų cigarečių skaičius tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų reikšmingai nesiskiria. Tačiau T.L. Conway atliktame tyrime nustatyta, kad daugiau surūkoma cigarečių ir išgeriama kava esant dideliame stresui [128]. Galima daryti išvadą, kad yra individualūs tendencijos skirtumai didinti arba mažinti įprastą medžiagų vartojimą, reaguojant į skirtingą streso lygį.

Nustatyta, kad mažo fizinio aktyvumo tiriamųjų reikšmingai daugiau yra tarp žemo streso lygio tiriamųjų. Panašius rezultatus galima rasti ir kitų mokslininkų darbuose [129].

Nustatyta, kad tiriamieji, pasižymintys aukštu stresu lygiu, pasižymi stipresne emocine parama. Tuo tarpu kiti darbo aplinkos, socialinės paramos ir asmenybės bruožų rodikliai, kaip ir depresijos rizika, tarp žemo ir aukšto streso lygio tiriamųjų reikšmingai nesiskyrė.

IŠVADOS

1. Bendro antioksidacinio aktyvumo mediana išmatuota FRAP tyrimo metodu buvo 47,68 μ M, Tween 80 oksidacijos testu 43,37%.
2. Tiriamojoje grupėje patiriančioje žemesnį streso lygį bendras antioksidacinis aktyvumas buvo 46,20 μ M ir 43,78% atitinkamai FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais; grupėje patiriančioje didesnį streso lygį bendras antioksidacinis buvo 49,14 μ M ir 42,63% atitinkamai FRAP ir Tween 80 tyrimo metodais.
3. Bendras antioksidacinis aktyvumas yra mažesnis didesnį stresą patiriančių asmenų kraujo serume. Tarp skirtingą streso lygį patiriančių grupių išsiskyrė fizinis aktyvumas: žemo streso lygio tiriamieji yra mažiau fiziškai aktyvūs ir emocinė parama: stipresnę emocinę paramą gauna patiriantieji didelį stresą.

SUMMARY

The assessment of blood serum total antioxidant activity of males suffering from different levels of stress

Introduction. Stress is an organism's response to a stressor, during exposure of stress endogenous protective mechanisms existing in living cells may become insufficient and cause an imbalance between pro-oxidative factors and antioxidants that leads to increased oxidation.

Aim. The aim of this work was to evaluate total antioxidant activity in blood serum of men suffering from different levels of stress.

Materials and methods. 220 healthy males aged 25-54 years were subjects of this research. Stress level was evaluated by the concentration of cortisol in hair: individuals with cortisol concentrations below the median ($<45,6250\text{ng/g}$) – classified as having low level of stress, individuals with cortisol concentration above the median were classified as having high level of stress. Total antioxidant activity (TAA) was determined by the ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay and Tween 80 oxidation test (the data was expressed as the percentage of reduction rate). Microsoft Office Excell 2010 and R version 3.4.3 software packages were used for statistical analysis.

Results. Median of TAA assessed using FRAP assay was $47.68\text{ }\mu\text{M}$, using Tween 80 – 43.37%.

In the group of study individuals with low level of stress TAA was $46.20\text{ }\mu\text{M}$ and 43.78% respectively by FRAP and Tween 80. In the group of study individuals with high level of stress TAA was $49.14\text{ }\mu\text{M}$ and 42.63 % respectively by FRAP and Tween 80.

FRAP assay has shown statistically significantly higher TAA in the group of study individuals with low level of stress ($r=0.3054$, $p=0.0062$), but not a Tween 80 test ($r= -0.1587$, $p = 0.1653$).

Conclusions. FRAP assay but not a Tween 80 oxidation test has shown the difference of total antioxidant activity between different levels of stress evaluated by the concentration of cortisol in hair.

Key words: antioxidants, total antioxidant activity, stress, FRAP, Tween 80.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Ornish D. Dean Ornish's program for reversing heart disease. A. Monat 2007.
2. Cohen S, Frank E, Doyle WJ, Skoner D. Types of stressors that increase susceptibility to the common cold in healthy adults. Health Psychology. 1998; 17(3): 214.
3. Antonova L, Mueller C. Hydrocortisone down-regulates the tumor suppressor gene BRCA1 in mammary cells: A possible molecular link between stress and breast cancer. Genes, Chromosomes and Cancer, 2008; 47.4: 341-352.
4. Fitzgerald PJ. Is elevated noradrenaline an aetiological factor in a number of diseases?. Autonomic and Autacoid Pharmacology 2009; 29.4: 143-156.
5. Bennett EJ. Level of chronic life stress predicts clinical outcome in irritable bowel syndrome. Gut 1998; 43.2: 256-261.
6. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, 2007; 39(1): 44-84.
7. Mitscher LA. Telikepalli Natural antimutagenic agents. Mutat. Res. 1996; 350(1): 142–143.
8. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eur. J. Cancer, 2000; 36(10):1235–1247.
9. Sala A, Recio MD, Giner RM, Manez S, Tournier H, Schinella G, Rios JL. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. J. Pharm. Pharmacol, 2002; 54(3):365–371.
10. Lyon B.L. Stress, coping, and health. Handbook of stress, coping and health: Implications for nursing research, theory, and practice. 2000; 3-23.
11. Selye H. The stress of life. 1956.
12. Grakauskas Ž. Stresas ir elgesio savireguliacija: teorinės sąveikos problemos. Psichologija, 2004; 29: 74-86.
13. Stangor C, Walinga J. Introduction to psychology. BCcampus, BC Open Textbook Project, 2014
14. Selye H. The concept of stress: Past, present and future. In C.L. Cooper (Ed.). Stress research: Issues for the eighties. New York: John Wiley 1983.

15. Holmes T, Rahe RH. The social readjustment rating scale. *Journal of psychosomatic research* 1967;11.2: 213-218.
16. Rahe RH, Arthur R.J. Life change and illness studies: Past history and future directions. *Journal of Human Stress* 1978; 4: 3–15
17. Lazarus RS. *Psychological stress and the coping process*. New York, NY: McGraw-Hill 1966
18. Werner EE. Risk, resilience, and recovery: Perspectives from the Kauai longitudinal study. *Development and Psychopathology* 1993; 5:503-515
19. Mechanic D. *Students under stress: A study in the social psychology of adaptation*. Madison: University of Wisconsin Press 1978.
20. Lazarus RS. From psychological stress to the emotions: A history of changing outlooks. *Annual review of psychology* 1993; 44.1: 1-22.
21. Interneto prieiga: <http://www.lietuviuzodynas.lt/terminai/Stresorius>
22. Babichenko J. Modeling of work-related stress determinants: A cross-cultural comparison. In *International Business Development. Vilnius Conference 2008*, Vilnius 2004.
23. Werner JS. Stressors and health outcomes: Synthesis of nursing research, 1980-1990. *Stress and coping: State of the science and implications for nursing theory, research and practice* 1993; 11-42.
24. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews*, 2007; 87(3): 873-904.
25. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research* 2002; 53(4): 865-871.
26. Agudo J. Lėtinis stresas. *Biologinė medicina* 2010; 26:26-28.
27. Stankus A. (2001). Psichosomatinės medicinos aspektai. *Biomedicina* 2001; 1(1): 49-59.
28. Blokhina O, Eija V, Fagerstedt VK. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany* 2003; 91.2: 179-194.
29. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *International Journal of Radiation Biology* 1994; 65 (1): 27–33.

30. Poljsak B, Jamnik P, Raspor P, Pesti M. Oxidation antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution. *Encyclopedia of Environmental Health*, N. Jerome. 2011; 300–306, Elsevier.
31. Gilca M, Stoian I, Atanasiu V, Virgolici B, The oxidative hypothesis of senescence *Journal of Postgraduate Medicine* 2007; 53(3): 207–213.
32. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1992; 119(6): 598–620.
33. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine* 1991; 91(3): 31–38.
34. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews* 2002; 82 (1): 47–95.
35. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982;47:412–26.
36. Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews* 2010; 4(8): 118.
37. Abuja PM, Riccardo A. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica chimica acta* 2001; 306(1-2): 1-17.
38. Lovell MA, Ehmann WD, Buffer BM, Markesberry WR. Elevated thiobarbituric acid reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzemers disease. *Neurology* 1995; 45: 1594–601.
39. Woo RA, Melure KG, Lee PW. DNA dependent protein kinase acts upstream of p53 in response to DNA damage. *Nature* 1998;394:700–4.
40. Hattori Y, Nishigori C, Tanaka T, Ushida K, Nikaido O, Osawa T. 8 Hydroxy-2-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *J Invest Dermatol* 1997;89:10405–9.
41. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med* 1993;15:77–96.
42. Shi HL, Noguchi N, Niki N. Comparative study on dynamics of antioxidative action of α -tocopheryl hydroquinone, ubiquinol and α -tocopherol, against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1999;27:334–46.

43. Levine M, Ramsey SC, Daruwara R. Criteria and recommendation for Vitamin C intake. *JAMA* 1991;281:1415–23.
44. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47:412–26.
45. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and cofactors. *Clinical Interventions in Aging* 2007; 2(2): 219–236.
46. Halliwell B. Free radicals and antioxidants—quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences* 2011; 32(3): 125–130.
47. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin* 1993; 49(3): 481–493.
48. Gems D, Doonan R. Antioxidant defense and aging in *C. elegans*: is the oxidative damage theory of aging wrong? *Cell Cycle* 2009; 8(11): 1681–1687.
49. P´erez VI, Bokov A, Remmen HV. Is the oxidative stress theory of aging dead? *Biochimica et Biophysica Acta* 2009; 1790(10): 1005–1014.
50. Jang YC, Remmen HV. The mitochondrial theory of aging: insight from transgenic and knockout mouse models. *Experimental Gerontology* 2009; 44(4): 256–260.
51. Terman A, Brunk UT. Oxidative stress, accumulation of biological “garbage”, and aging. *Antioxidants and Redox Signaling* 2006; 8(1-2): 197–204.
52. Brunk UT, Jones CB, Sohal RS. A novel hypothesis of lipofuscinogenesis and cellular aging based on interactions between oxidative stress and autophagocytosis, *Mutation Research* 1992; 275(3-6): 395–403.
53. Terman A. Garbage catastrophe theory of aging: imperfect removal of oxidative damage? *Redox Report* 2001; 6(1): 15–26.
54. Dröge W, Schipper HM. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. *Aging Cell* 2007; 6(3): 361–370.
55. Bokov A, Chaudhuri, Richardson A. The role of oxidative damage and stress in aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 2004; 125(10-11): 811–826.
56. Bruce N, Ames Mark, K.S. Tory M H. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90:7915–7922.
57. Burton GW, Ingold KU. Mechanisms of antioxidant action: preventive and chain-breaking antioxidants. In: Miguel A, Quintanilha AT, Weber H, editors. *CRC Handbook*

- of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine. Boca Raton, FL.: Press Inc.; 1990. pp. 29–43.
58. Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as an *in vitro* and *in vivo* antioxidant. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1989; 570:7–22
 59. Cai YZ, Sun M, Corke H. Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae. J. Agric. Food Chem. 2003; 51(8):2288–2294.
 60. Cotelle N, Bernier JL, Catteau JP, Pommery J, Wallet JC, Gaydou EM. Antioxidant properties of hydroxyflavones. Free Rad. Bio. Med. 1996; 20(1):35–43.
 61. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. J. Agric. Food Chem. 1998; 46(10):4113–4117.
 62. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chem. 2001; 49(11):5165–5170.
 63. Stanner SA, Hughes J, Kelly CNM, Buttriss J. A review of the epidemiological evidence for the ‘antioxidant hypothesis. Public Health Nutrition 2004; 7(3): 407–422.
 64. World Cancer Research Found, interneto prieiga: <http://www.wcrf.org/>.
 65. Cherubini A, Vigna GB, Zuliani G, Ruggiero C, Senin U, Fellin R. Role of antioxidants in atherosclerosis: epidemiological and clinical update. Current Pharmaceutical Design 2005; 11(16): 2017–2032.
 66. Lotito SB, Frei B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? Free Radical Biology and Medicine 2006; 41(12): 1727–1746.
 67. Boeing H, Bechthold A, Bub A. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. European Journal of Nutrition 2012; 51(6): 637–663.
 68. Crowe FL, Roddam AW, Key TJ. Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. European Heart Journal 2011; 32(10): 1235–1243.
 69. Willett WC. The Mediterranean diet: science and practice. Public Health Nutrition 2006; 9(1): 105–110.
 70. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science 1996; 273(5271): 5271, pp. 59–63.

71. Bogdan IA, Baumann L. Antioxidants used in skin care formulations. *Skin Therapy Letter* 2008; 13(7): 5–9.
72. Hagen JL, Krause DJ, Baker DJ, HuaFu M, Tarnopolsky MA, Hepple RT. Skeletal muscle aging in F344BN F1- hybrid rats: I.Mitochondrial dysfunction contributes to the ageassociated reduction in VO₂max. *Journals of Gerontology* 2004; 59(11): 1099–1110.
73. Hamilton ML, Remmen HV, Drake JA. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001; 98(18): 10469–10474.
74. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.
75. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med.* 1993;15:77–96
76. Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1992;200:248–54.
77. Lunec J, Griffiths HR. *Measuring in vivo Oxidative Damage*. John Willey and Sons, New York, NY, USA, 2000.
78. Poljsak B, Jamik P. Methodology for oxidative state detection in biological systems; in *Handbook of Free Radicals: Formation, Types and Effects*, D. Kozyrev and V. Slutsky, Eds., Cell Biology Research Progress Series, Nova Science, New York, NY, USA, 2010.
79. Argüelles S, Gómez A, Machado A, Ayala A. A preliminary analysis of within-subject variation in human serum oxidative stress parameters as a function of time. *Rejuvenation Research* 2007; 10(4): 621–636.
80. Pinchuk I, Shoval H, Dotan Y, Lichtenberg D. Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays. *Chemistry and physics of lipids* 2012; 165(6): 638-647.
81. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry* 1996; 239(1): 70-76.
82. Benzie IFF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology.* 1999; 299: 15-27, Academic Press.

83. Galaktionova LP, Molchanov AV, El'chaninova SA, Varshavskii B. Lipid peroxidation in patients with gastric and duodenal peptic ulcers. *Klinicheskaiia laboratornaia diagnostika* 1998; 6: 10-14.
84. Amitava D, Klein K. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements: Prevention and Treatment of Disease*. Academic Press, 2014.
85. Pryor WA. The antioxidant nutrients and disease prevention-what do we know and what do we need to find out? 1991; 1(2).
86. Trevisan, Maurizio. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *American journal of epidemiology* 2001; 154(4): 348-356.
87. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine* 1990; 9(6): 515-540.
88. Vasu N, O'Neil CL, Wang PG. Malondialdehyde. *e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* 2008.
89. Davey MW, Stals E, Panis B, Keulemans J, Swennen RL. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical biochemistry* 2005; 347(2): 201-207.
90. Pryor WA, Stanley JP. Suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *The Journal of organic chemistry* 1975; 40(24): 3615-3617.
91. Moore K, Roberts LJ. Measurement of lipid peroxidation. *Free radical research* 1998; 28(6): 659-671.
92. Del RioD, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases* 2005; 15(4): 316-328.
93. Raudonis R, Raudonė L, Janulis V, Viškelis P. Antiradikalinio ir redukcinio aktyvumo nustatymo metodai (apžvalga). *Sodininkystė ir daržininkystė* 2012; 31(3-4): 15-35.
94. Yang X, Boyle RA. *Sensory Evaluation of Oils/Fats and Oil/Fat-Based Foods. In Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*; 2016: 157-185

95. Ozcan E. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry* 2004; 37(4): 277-285.
96. Osadowski Z, Maryniuk M, Kharchenko I, Buyun L., Tkachenko H. Total antioxidant capacity in the muscle tissue of the rainbow trout (*oncorhynchus mykiss walbaum*) under *in vitro* incubation with extracts from leaves of various species of *sansevieria thunb* (*asparagaceae*). *Науково-технічний бюлетень*, 2017; 118: 14-21
97. Tkachenko H, Kurhaluk N. Blood oxidative stress and antioxidant defense profile of White Stork *Ciconia ciconia* chicks reflect the degree of environmental pollution. *Ecological Questions* 2013; 18(1): 79-89.
98. Oakes KD, Van Der Kraak GJ. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology* 2003, 63(4): 447-463
99. Interneto prieiga:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/443315#section=Information-Sources>
100. Interneto prieiga: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ferrous_sulfate
101. Interneto prieiga: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067>
102. Interneto prieiga: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6421#section=Top>
103. Interneto prieiga: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2723628>
104. Kristenson M., Kucinskienė Z., Bergdahl B., Calkauskas H., Urmonas V, Orth-Gomer K. (1998). Increased psychosocial strain in Lithuanian versus Swedish men: the LiVicordia study. *Psychosomatic Medicine*, 1998; 60(3): 277-282.
105. Diaz E, Ruiz F, Hoyos I, Zubero J, Gravina L, Gil J. Cell damage, antioxidant status, and cortisol levels related to nutrition in ski mountaineering during a two-day race. *Journal of sports science & medicine*, 2010; 9(2): 338.
106. Sivakumar AVN, Singh G, Varshney VP. Antioxidants supplementation on acid base balance during heat stress in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2010; 23(11): 1462-1468.
107. Koca Y, Özdal Ö L, Celik M, Ünal S, Balaban N. Antioxidant activity of seminal plasma in fertile and infertile men. *Archives of andrology*, 2003: 49(5): 355-359.

108. Leinonen JS, Ahonen JP, Lönnrot K, Jehkonen M, Dastidar P, Molnár G, Alho H. (2000). Low plasma antioxidant activity is associated with high lesion volume and neurological impairment in stroke. *Stroke*, 2000; 31(1): 33-39.
109. Rocha-Pereira P, Santos-Silva A., Rebelo I, Figueiredo A, Quintanilha A, Teixeira F. Dislipidemia and oxidative stress in mild and in severe psoriasis as a risk for cardiovascular disease. *Clinica chimica acta*, 2001; 303(1-2): 33-39.
110. Mohn A, Marzio D, Giannini, C, Capanna R, Marcovecchio M, Chiarelli F. Alterations in the oxidant-antioxidant status in prepubertal children with growth hormone deficiency: effect of growth hormone replacement therapy. *Clinical endocrinology*, 2005; 63(5): 537-542.
111. Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González Á, Esquivel-Chirino C. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International journal of molecular sciences*, 2011; 12(5): 3117-3132.
112. Yang R, Le G, Li A, Zheng J, Shi Y. Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. *Nutrition*, 2006; 22(11): 1185-1191.
113. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism-Clinical and Experimental*, 2000; 49(2): 27-29.
114. Brighenti F, Valtuena S, Pellegrini N, Ardigo D, Del Rio D. Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *British Journal of Nutrition*, 2005; 93(5): 619-625.
115. Yang RL, Shi YH, Hao G, Li W, Le GW. Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in human: relation between malondialdehyde and atherogenic index. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 2008; 43(3): 154-158.
116. Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current medicinal chemistry*, 2001; 8(7): 829-838.
117. Heber D. Colorful cancer prevention: α -carotene, lycopene, and lung cancer. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 901-2.
118. Murakoshi M, Takayasu J, Kimura O, Kohmura E, Nishino H, Iwashima A. Inhibitory effects of α -carotene on proliferation of the human neuroblastoma cell line GOTO. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 1989; 81(21): 1649-1652.

119. Kontush A, Spranger T, Reich A, Baum K, Beisiegel U. Lipophilic antioxidants in blood plasma as markers of atherosclerosis: the role of α -carotene and γ -tocopherol. *Atherosclerosis*, 1999; 144(1): 117-122.
120. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 2007; 297:842–57.
121. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst*, 1996; 88: 1550–9
122. Satia JA, Littman A, Slatore CG, Galanko JA, White E. Long-term use of beta-carotene, retinol, lycopene, and lutein supplements and lung cancer risk: results from the VITamins And Lifestyle (VITAL) study. *Am J Epidemiol*, 2009; 169: 815–28.
123. Leppala JM, Virtamo J, Fogelholm R, Huttunen JK, Albanes D, Taylor PR. Controlled trial of alpha-tocopherol and betacarotene supplements on stroke incidence and mortality in male smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20: 230–5.
124. Demircan N, Gurel A, Armutcu F, Unalacak M, Aktunc E, Atmaca H. The evaluation of serum cystatin C, malondialdehyde, and total antioxidant status in patients with metabolic syndrome. *Medical Science Monitor*, 2008; 14(2): CR97-CR101.
125. Suresh DR, Annam V, Pratibha K, Prasad BM. Total antioxidant capacity—a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *Journal of biomedical science*, 2009; 16(1): 61.
126. Rani AJ, Mythili SV. Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 2014; 8(3): 108.
127. Tamer L, Sucu N, Polat G, Ercan B, Aytacoglu B, Yücebیلgiç G. Decreased serum total antioxidant status and erythrocyte-reduced glutathione levels are associated with increased serum malondialdehyde in atherosclerotic patients. *Archives of medical research*, 2002; 33(3): 257-260.

128. Conway TL, Vickers Jr RR, Ward HW, Rahe RH. Occupational stress and variation in cigarette, coffee, and alcohol consumption. *Journal of health and social behavior*, 1981; 155-165.
129. Stults-Kolehmainen MA, Sinha R. The effects of stress on physical activity and exercise. *Sports medicine*, 2014; 44(1): 81-121.

DARBO APROBACIJA

Darbo rezultatai yra pristatyti tarptautinėje mokslinėje konferencijoje. Pateiktos tezės ir stendintis pranešimas:

1. Baltrušaitytė A, Mažeikienė A, Karčiauskaitė D, Burokienė N, Linkevičiūtė A, Kučinskienė ZA. The assessment of blood serum total antioxidant activity of males suffering from different levels of stress. 14th Baltic Congress of Laboratory Medicine, May 10 – 12, 2018, Vilnius, Lithuania. Laboratorinė medicina. 2018, Vol.20 Special Supplement, S25.