



BMGMS

LIETUVOS MOKSLŲ
AKADEMIJA

16-oji Lietuvos
jaunųjų mokslininkų
konferencija

BIOATEITIS:

gamtos ir gyvybės mokslų
perspektyvos

PRANEŠIMŲ TEZĖS

RĖMĖJAS

ThermoFisher
SCIENTIFIC



TURINYS

PLENARINIAI PRANEŠIMAI

Nuo mokslinės idėjos iki jos įgyvendinimo (patarimai sėkmingai akademiniai karjerai)	
Akad. Limas Kupčinskas.....	7
Cheminė ekologija: ką gali molekulės-mažylės	
Akad. Vincas Būda	8

BENDROSIOS BIOLOGIJOS SEKCIJA

Paukščių maliarinės infekcijos poveikis stuburinio šeimininko žarnyno mikrobiotai	
Justė Aželytė.....	9
Molecular diagnostic tools unrevealing formerly unknown pathologies caused by neglected cosmopolitan malaria-like <i>Haemoproteus</i> blood parasites	
Duc Mélanie.....	10
Nuostoviųjų klausos atsakų tyrimas pasitelkiant pelių modelį	
Urtė Jašinskytė.....	11
Kuršių marių žuvų dydžių pokyčiai dėl tiesioginės ir netiesioginės žmogaus veiklos	
Elyza Piliपाitytė	12
Mikrobiotos-smegenų ašis ir elgsena: motinos riebios dietos įtaka palikuonių neurovystymuisi	
Gintarė Urbonaitė.....	13
Potencialių genitinių žymenų kiaušidžių vėžio diagnostikai ir predikcijai tyrimai	
Ieva Vaicekauskaitė	14

BIOTECHNOLOGIJOS IR BIOCHEMIJOS SEKCIJA Biotechnologija

Kamieninės ląstelės: mažos kovotojos su didelėmis problemomis	
Povilas Barasa.....	15
Į virusus panašios dalelės ir jų pritaikymas alergenu specifinei imunoterapijai	
Laima Čepulytė.....	16
Glikoinžinerija antikūnų-vaistų konjugatų sintezei	
Dovilė Daunoraitė.....	17
Genetiškai koduojamas fosfatidilserino biojutiklis <i>in vitro</i>, <i>ex vivo</i> ir <i>in vivo</i> žymėjimui	
Eimina Dirvelytė.....	18

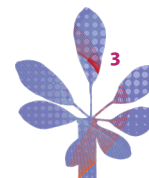
KONFERENCIJOS ORGANIZACINIS KOMITETAS:

akad. Limas KUPČINSKAS (Lietuvos mokslų akademijos (LMA)
Biologijos, medicinos ir geomokslų (BMGM) skyrius) – pirmininkas
akad. Vaidutis KUČINSKAS (Vilniaus universitetas) – pirmininko pavaduotojas
dr. Jadvyga OLECHNOVIČIENĖ (LMA BMGM skyrius) – vyriausioji koordinatore
akad. Rūta DUBAKIENĖ (LMA BMGM skyriaus Medicinos ir sveikatos mokslų sekcija)
akad. Jūratė KRIAUČIŪNIENĖ (LMA BMGM skyriaus Geomokslų sekcija)
akad. Kęstutis SASNAUSKAS (LMA BMGM skyriaus Biofizinių mokslų sekcija)
akad. Sigitas PODĖNAS (LMA BMGM skyriaus Bendrosios biologijos mokslų sekcija)

Leidinį sudarė dr. Jadvyga Olechnovičienė
Apipavidalino Miglė Datkūnaitė

Pranešimų santraukų kalba netaisyta

ISSN 2783-826



Mikroklampos įvertinimas diferencijuotose mezenchiminėse kamieninėse ląstelėse taikant klampai jautrius fluoroforus	
Džiugas Jurgutis.....	19
Plastikas ir biokatalizė: poliuretano biodegradacijos tyrimas	
Jokūbas Krutkevičius.....	20
Transliacijos slopinimas priešvirusinėje CRISPR-Cas gynyboje	
Irmantas Mogila.....	21

MEDICINOS IR SVEIKATOS MOKSLŲ SEKCIJA

Medicina

Plaučių mikrobiotos sudėtis ir pokyčiai sergant nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžiu	
Vytautas Ankuđavičius.....	22
Knarkimas ir REM miego trūkumas yra susiję su kitos dienos prieširdinėmis aritmijomis: TriggersAF prieširdžių virpėjimo kohortos tyrimas	
Justinas Bacevičius.....	23
Širdies ritmo kitimo analizė pritaikant modelį: paklaidos irgi gali būti prasmingos	
Mindaugas Baranauskas.....	25
Autosominė dominantinė policistinė inkstų liga: klinikinių duomenų ir variantų analizė PKD1 gene	
Deimantė Braždžiūnaitė.....	26
Fracijinio tėkmės rezervo ir intravaskulinio ultragarsinio tyrimo įtaka funkciniam perkutaninės koronarinės intervencijos rezultatui gydant ilgus vainikinių arterijų pažeidimus	
Povilas Budrys.....	27
Hepatitis C patikros programa Lietuvoje: pirmųjų programos metų rezultatai ir galimi infekcijos eliminavimo scenarijai	
Eglė Čiupkevičienė.....	28
Paklitakselio praėjimo pro CNS ir PNS barjerus palyginimas tarp žiurkių patinų ir patelių po <i>Cremophor EL</i> / etanolyje ištirpinto, su albuminu surišto ir micelinio paklitakselio įvedimo į organizmą	
Milda Girdenytė.....	29

BIOTECHNOLOGIJOS IR BIOCHEMIJOS SEKCIJA

Biochemija

Valgomos vakcinos link? Baltymų eksponavimo mielių ląstelių paviršiuje technologijos esminiai aspektai ir pirminiai sistemos testavimai įtvirtinant <i>Acinetobacter baumannii</i> B1p1 baltymo fragmentą	
Arūnė Verbickaitė.....	30

Endometriumo vėžio ląstelių linijų kūrimas personalizuotai terapijai	
Eglė Zalytė.....	31
Inkstų mitochondrijų kardiolipinai: pokyčiai hipoksijos/reoksigacijos metu	
Arvydas Strazdauskas.....	32
Epigenetiniai biožymenys ankstyvai neinvazinei inkstų navikų diagnostikai ir stebėsenai	
Raimonda Kubiliūtė.....	33
Su retomis paveldimomis ligomis siejamuose FAS ir DYNC1H1 genuose nustatytų splaisingo variantų funkcinė analizė fibroblastuose	
Gunda Petraitytė.....	34
Žvakės šviesą skleidžiantys organiniai šviestukai melatonino neslopinantiems apšvietimo prietaisams	
Dovydas Blaževičius.....	35
Monokloninių antikūnų prieš SARS-CoV-2 nukleokapsidės baltymą kūrimas ir apibūdinimas	
Agnė Rimkutė.....	36

MEDICINOS IR SVEIKATOS MOKSLŲ SEKCIJA

Sveikatos mokslai

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto studentų infekuotumo <i>Helicobacter pylori</i> pokyčiai per 25 metus ir infekuotumo sąsaja su dispepsijos simptomais	
P. Jonaitis.....	37
Hipoksijos ir imuninio atsako žymenų ekspresija vaikų centrinės nervų sistemos navikuose	
Monika Kapitančukė.....	39
Eozinofiloetinių reikšmė skirtingų kraujo eozinofilų potipių aktyvumui sergant astma	
Airidas Rimkūnas.....	41
Obstrukcinės miego apnėjos charakterizavimas panaudojant rekurentinių diagramų analizę	
Mantas Rinkevičius.....	42
Žarnyno mikrobiotos transplantacija geriamomis kapsulėmis pasikartojančios <i>C. Difficile</i> infekcijos gydymui: efektyvumo ir saugumo rezultatai	
Tadas Urbonas.....	43
Išmatų transplantacija, jos pritaikymas terapiniais tikslais vaikų populiacijoje. Esama praktika pasaulyje ir patirtis Vilniaus universiteto liginės Santaros klinikoje	
Dominykas Varnas.....	44
Eozinofilų potipių miRNR raiškos pokyčiai ir poveikis tiksliniams genams sergant astma	
Eglė Vasylytė.....	45
Lietuvoje ir Lenkijoje paplitusios daugeliui vaistų atsparios <i>Mycobacterium tuberculosis</i> nustatymas fenotipiniais ir molekuliniais metodais	
Laima Vasiliauskaitė.....	46

PLENARINIAI PRANEŠIMAI

Nuo mokslinės idėjos iki jos įgyvendinimo (patarimai sėkmingai akademinėi karjerai)

Akad. Limas Kupčinskas, Lietuvos mokslų akademijos
Biologijos, medicinos ir geomokslų skyriaus pirmininkas

Kiekvienas žmogus svajoja apie sėkmingą karjerą. Taip pat, kiekvienas pasirenka individualų kelią jos siekti. Šis pasirinkimas daro įtaką žinių kokybei, kompetencijoms, praktiniams įgūdžiams, profesinei etikai ir žinomai, pasisekimui. Karjera akademinėje sferoje turi savų ypatumų. Baigus studijas ir pasirenkant mokslininko kelią reikalingi gabumai, tikslingas darbas, tinkamas mentorius ir pasirenkant bendradarbių aplinka, organizacinių-vadybinių gabumų vystymas, mokėjimas bendradarbiauti tiek su savo padalinio bendradarbiais, tiek ieškant tarptautinių partnerių. Dabar daug kalbama apie lyderystės ugdymą, bet ne mažiau svarbu išsiugdyti komandinio darbo įgūdžius. Mokslinio darbo krypties pasirinkimas nepaprastai svarbus, tiesa, ją paprastai parenka vadovas arba mentorius, tačiau gerai įsigilinus į pasiūlytą temą, išstudijavus literatūrą visada galima rasti mokslinę problemą arba 'nišą', kurioje išlieka daugiau klausimų nei gauta atsakymų. Pradėjus dirbti mokslinį darbą teks išmokyti mokslinių straipsnių ir mokslinių projektų gauti finansavimą savo tyrimams rašymo taisyklės, dalyvauti kuriant panašią tematiką dirbančių mokslininkų tinklus, viešinti savo gautus rezultatus plačiajai visuomenei (didžioji dalis mokslinio finansavimo – tai mokesčių mokėtojų pinigų), išnaudoti verslo paramą.

Gyvybės mokslų srityje, ypač medicinos ir sveikatos moksluose, nepaprastai svarbus tarptautinis bendradarbiavimas. Kad tapti įdomiu užsienio partneriams, reikia turėti bendradarbiavimo idėją. Pavyzdžiui, kuriant Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Virškinimo sistemos tyrimų institutą, kuris nuo 1 darbuotojo 2000 m. išaugo iki 40 (2023 m.), pagrindinė užsienio partneriams pasiūlyta idėja buvo Rytų-Vakarų skirtumų (ne geografinė, bet geopolitinė prasme, angl. *East-West gradient*) tyrimai. Buvusi „geležinė uždanga“ – žmonių judėjimo apribojimas ir izoliacija, skirtingi sanitarijos ir higienos reikalavimai, mitybos ypatumai, skirtingas sveikatos apsaugos lygis, sąlygojo ligų paplitimo ir eigos skirtumus, taip pat su ligomis susijusius žmogaus mikrobiotos ypatumus. Bendras šių problemų sprendimas vėliau išsiplėtė į multiomikos ir transliacinės bei personalizuotos medicinos tyrimus, kurių sprendimui 2022 m. buvo laimėti 6 ES „Horizon“ projektai.

Mokslininko karjera nesibaigia apgynus disertaciją, po jos tenka vadovauti bakalaurų, magistrų, doktorantų darbams. Tapus vadovu, naudinga nepamiršti keletą taisyklių. Vadovavimo funkcijas reikia maksimaliai išskirstyti pavaldiniams, bet iki tokio laipsnio, kad vadovas dar būtų reikalingas... Perduodant nurodymus pavaldiniams, gali įvykti „informacijos perdavimo sutrikimas“... Reikia stengtis išryškinti darbuotojų sugebėjimus ir neutralizuoti trūkumus. Jeigu pavaldinių tarpe yra jūsų draugai ar giminaitis, reikalavimai jiems turi būti didesni nei kitiems grupės nariams... Galiausiai, nereikia bijoti dalintis idėjomis.



Cheminė ekologija: ką gali molekulės-mažylės

Askad. Vincas Būda, Gamtos tyrimų centro vyriausiasis mokslo darbuotojas

Gyvajai gamtai svarbios makromolekulės – DNR, RNR, baltymai – šiuolaikinio mokslo dėmesio centre, kaip ir jų tyrėjai. Šių molekulių vaidmuo gyviesiems organizmams jau gana gerai žinomi, tačiau svarba tokia didelė, kad tyrimai (ir taikymai) pelnytai gilinami ir plėtojami toliau. Ar dėmesio vertos tik stambiosios molekulės, dar vadinamos pirminiais metabolitais, kurie svarbūs organizmų vystymuisi, augimui ir dauginimuisi? Mažosios molekulės, dar vadinamos antriniais metabolitais, taip pat svarbios dauginimuisi (pastaroji funkcija gal net svarbesnė nei pirminių metabolitų, nes lemia dauginimosi iniciacijos procesą) ir ypač svarbios organizmų išgyvenimui aplinkoje.

Būdamos mažos, šios molekulės yra kur kas judresnės ir atsparesnės aplinkos poveikiui nei stambiosios. Jas lengvai perneša vanduo arba oro srovės, todėl jos ypač tinka komunikacijai netgi tarp toli esančių organizmų. Neteisinga kartais sutinkama nuomonė, esą antriniai metabolitai tėra pirminių metabolitų gamybos atliekos: bus pateiktas keletas jų specialios sintezės organizme pavyzdžių.

Komunikacinės sąveikos cheminiais junginiais tarp organizmų – cheminės ekologijos tyrimų objektas. Būtent mažosios molekulės lemia tiek „draugiškas“ organizmų sąveikas (abipusiai naudingas, netgi „meilias“, inicijuojančias lytinio suartėjimo procesą), tiek „nedraugiškas“ (antagonistines).

Bus pateikiama gamtoje vykstančių tokių sąveikų lytiniais feromonais, fitoncidais ir antibiotikais pavyzdžių. Kai kurie jų bus iliustruojami Lietuvos tyrėjų paskelbtais rezultatais. Klausytojams pageidaujant, bus paliestas žmogaus feromonų tyrimų klausimas.

BENDROSIOS BIOLOGIJOS SEKCIJA

Paukščių maliarinės infekcijos poveikis stuburinio šeimininko žarnyno mikrobiotai

Justė Aželytė¹, Apolline Maître^{2,3,4}, Lianet Abuin-Denis^{2,5}, Elianne Piloto-Sardiñas^{2,6}, Alejandra Wu-Chuang², Rita Žiegytė¹, Lourdes Mateos-Hernandez², Dasiel Obregon⁷, Alejandro Cabezas-Cruz², Vaidas Palinauskas¹

¹Gamtos tyrimų centras, P. B. Šivickio parazitologijos laboratorija, Vilnius, Lietuva

²Prancūzijos nacionalinė maisto, aplinkos ir darbo saugos agentūra, UMR BIPAR, Maisons-Alfort, Prancūzija

³Prancūzijos nacionalinis žemdirbystės, maisto ir aplinkos mokslinis institutas, Corte, Prancūzija

⁴EA 7310, Corte universitetas, Virusologijos laboratorija, Corte, Prancūzija

⁵Gyvūnų biotechnologijos departamentas, Genetinės inžinerijos ir biotechnologijų centras, Havana, Kuba

⁶Nacionalinis gyvūnų ir augalų sveikatos centras, Gyvūnų sveikatos skyrius, Mayabeque, Kuba

⁷Guelfo universitetas, Aplinkos mokslų mokykla, Ontarijas, Kanada

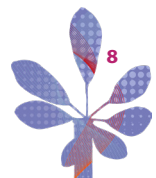
Paskutiniųjų metų tyrimai atskleidė, kad parazitų sukeltos infekcijos gali paveikti stuburinio? šeimininko imuninę sistemą ir fiziologiją per sukeltus pokyčius mikrobiotoje. Nors paukščių maliarija yra dažnai aptinkama infekcija laukiniuose paukščiuose, galinti sukelti sunkius susirgimus ir kartais šeimininko mirtį, vis dar trūksta informacijos apie *Plasmodium* parazitų poveikį paukščio žarnyno mikrobiotai. Šiame tyrime pasitelkiant bakterijų tinklų analizę buvo siekiama iširti ar paukščių maliarinis parazitas *Plasmodium relictum* turi įtakos kanarėlių mikrobiotos atsparumui kolonizacijai.

Tyrimo metu kanarėlių grupė buvo eksperimentiškai užkrėsta *P. relictum* parazitais. Mikrobiomo analizė atlikta naudojant 16S rRNR amplikonų sekų vienetus.

Preliminarūs tyrimo rezultatai atskleidė, kad paukščių maliarinė infekcija neturi didelio poveikio paukščių mikrobiotos alfa įvairovei, tačiau beta įvairovės rodikliuose buvo pastebėti reikšmingi skirtumai tarp užkrėstų ir kontrolinės grupės paukščių. Mikrobiomo analizė atskleidė specifinius taksonus būdingus kiekvienai iš grupių bei tam tikrų bakterijų gausumo skirtumus. Lyginant su kontroline grupe užkrėstų paukščių mikrobiotos tinkle buvo nustatyti sąveikų tarp bakterijų skirtumai veikiančios tinklo struktūrą ir stabilumą.

Gauti rezultatai parodė, kad paukščių maliariniai parazitai moduliuoja šeimininko žarnyno mikrobiotą, sukeldami tam tikrus nukrypimus nuo normalios mikrobiotos būsenos. *Plasmodium* infekcijos metu nustatyti pokyčiai paukščių mikrobiotoje gali būti susiję su atsparumu kolonizacijai.

Tyrimą finansavo Lietuvos mokslo taryba (Nr. S-MIP-22-52) ir Prancūzijos vyriausybės programa, Laboratoire d'Excellence "Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases" (Nr. ANR-10-LA-BX-62-IBEID).



Molecular diagnostic tools unrevealing formerly unknown pathologies caused by neglected cosmopolitan malaria-like *Haemoproteus* blood parasites

Duc Mélanie¹, Himmel Tanja², Ilgūnas Mikas¹, Harl Josef², Nedorost Nora¹, Matt Julia¹, Egidirdas Vytautas³, Weissenböck Herbert², Valkiūnas Gediminas

¹Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania

²Institute of Pathology, Department for Pathobiology, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria

³Ventės Ragas Ornithological station, Lithuania

Parasitic protists of the subgenus *Parahaemoproteus* (Haemosporida, Haemoproteidae, *Haemoproteus*) are widespread bird pathogens transmitted by *Culicoides* vectors. These parasites multiply asexually in the tissues of their avian hosts (exo-erythrocytic stages called meronts or megalomeronts) before the sexual stages (gametocytes) develop in blood cells. *Haemoproteus* parasites have been neglected due to the assumption of being harmless to their hosts, resulting in less than 30 out of 177 described species for which exo-erythrocytic stages are known. However, recent cases of severe to lethal haemoproteosis in non-adapted avian hosts showed how crucial it is to understand their patterns of infection development and mechanisms of virulence. The gap in knowledge in these parasites' life cycle reflects the difficulties to study the stages, requiring the application of different approaches for better understanding patterns of their development.

We collected samples at the ornithological station Ventė Cape, Lithuania. Parasite species were identified both by microscopy and analysis of DNA sequences of mitochondrial partial cytochrome *b* gene. Infected birds were dissected, and their organs collected, fixed in formalin, and embedded in paraffin blocks. Exo-erythrocytic stages were studied by light microscopic screening of haematoxylin and eosin-stained histological sections or by chromogenic *in situ* hybridization (CISH) processed sections. The combination of microscopic and PCR-based tools is thus a gold standard in biodiversity studies of these parasites.

Exo-erythrocytic stages of different species were found, showcasing different morphologies, sizes, and sites of development. The genus of the infection was confirmed by the application of CISH, with genus-specific probes. Brain haemoproteosis was observed as well as small meronts and megalomeronts.

Using different techniques and their combination (blood smear microscopy, DNA sequencing, H&E histology, CISH) for investigating exo-erythrocytic stages allow a finer description and recognition of the parasite species and their different stages of development in their avian host. The obtained data contribute to new knowledge about exo-erythrocytic development of *Haemoproteus* parasites, including the predictability of molecular phylogenies in investigation of tissue stages of avian haemoproteids.

Nuostoviųjų klausos atsakų tyrimas pasitelkiant pelių modelį

Urtė Jašinskytė, R. Guzulaitis

Neurobiologijos ir biofizikos katedra, Vilniaus universitetas, Lietuva

Centrinėje nervų sistemoje esantys neuroniniai tinklai pasižymi nuolat kintančiu aktyvumu, kuris kitaip vadinamas osciliacijomis. Manoma, kad smegenų osciliacijos vyksta dėl sinchronizuoto atskirų neuronų aktyvumo, o jų pakitimai stebimi sergant tokiomis nervų sistemos ligomis, kaip epilepsija, šizofrenija, demencija ar autizmu (Buzsáki ir Watson, 2012; Sugiyama ir kt., 2021). Kaip vienas iš metodų, kuris naudojamas tiriant osciliacijas, yra klausos nuostovieji atsakai (angl. *Auditory Steady – State Responses* arba ASSR), kai tiriamas smegenų atsakas į išoriškai pateikiamus pasikartojančius garsinius stimulus. Be to, ASSR gali būti taikomas kaip šizofrenijos biožymuo – eilė tyrimų rodo ASSR pakitimus ne tik diagnozuotos ligos atvejais, bet ir didelės rizikos individuose, kas leistų prognozuoti ligą ankstyvose stadijose (Tada ir kt., 2020). Paskutiniiais metais vis dažniau ASSR tiriamas laboratoriniuose gyvūnuose siekiant geriau suprasti mechanizmus atsakingus už ASSR generavimą. Pavyzdžiui, tiriama kaip moterų lytiniai hormonai, kurie siejami su šizofrenijos simptomų paūmėjimu, veikia šizofrenijos biožymenį ASSR. Be to, norint nustatyti kiek prie ASSR generavimo prisideda smegenų žievės neuroniniai tinklai, o kiek požievinės smegenų struktūros naudojamas ir tiesioginis smegenų žievės neuronų aktyvavimas/slopinimas šviesa (angl. *direct Steady – State Responses* arba dSSR).

ASSR tarp-lytiniais skirtumams ir lytinio ciklo įtakai ASSR parametrams įvertinti naudoti balto triukšmo garsiniai stimuli bei užregistruota ECoG pelių klausos žievėje. Tuo tarpu dSSR generavimo mechanizmas išsiaiškinti pasitelkta optogenetikos metodika, kai naudojant skirtingo dažnio šviesos stimuliaciją (5–80 Hz) selektyviai aktyvinti neuronai klausos žievėje.

Nustatyta, jog patelių 40 Hz ASSR galia lytinio ciklo metu reikšmingai skiriasi tarp metestrus ir diestrus fazių, o PLI parametras išlieka panašus tarp skirtingų lytinio ciklo fazių. Šie rezultatai rodo, kad tiriant 40 Hz ASSR pelėse, reikėtų atsižvelgti ir į lytinio ciklo fazę. Tuo tarpu užregistravus dSSR atsakus išsiaiškinta, kad skirtingai nuo ASSR, dSSR atsakai yra didžiausi naudojant didžiausio dažnio stimuliaciją. Tai rodo, jog pateikiant išorinę stimuliaciją (ASSR), aukštesni dažniai yra nufiltruojami iki pasiekiant žievę, tuo tarpu tiesiogiai aktyvuojant klausos žievės neuronus (dSSR), žievę gali pasiekti ir aukštesni dažniai.

Kuršių marių žuvų dydžių pokyčiai dėl tiesioginės ir netiesioginės žmogaus veiklos

Elyza Pilipaitytė¹, Asta Audzijonytė^{1,2}

¹Gamtos tyrimų centras, Lietuva

²Jūrų ir Antarkties mokslų institutas, Tasmanijos universitetas, Australija

Žmogaus paspartinta klimato kaita veikia daugelio organizmų augimą, keisdama vieną iš pagrindinių jų bruožų – dydį, nuo kurio priklauso individų medžiagų apykaitos greitis, dauginimasis ir mirtingumas. Žuvis yra pati įvairiausia ir rūšių skaičiumi gausiausia ektoterminių stuburinių gyvūnų grupė, kurių kūno dydis ne tik keičiasi dėl didėjančios vidutinės vandens temperatūros, bet ir dėl tiesioginės žmogaus veiklos (intensyvios žvejybos). Pasaulyje atlikti tyrimai kontroliuojamomis laboratorinėmis sąlygomis rodo, kad įvairių žuvų rūšių dydžiai mažėja, didėjant vandens temperatūrai. Toks reiškinys, kuomet jaunikliai auga greičiau, bet subrendę būna mažesnio dydžio, vadinamas temperatūros-dydžio taisykle. Natūraliose ekosistemose atliktų žuvų dydžio pokyčių tyrimų vis dar trūksta, o jų rezultatai kontraversiški ir rodo, kad nebūtinai visos žuvų rūšys dėl didėjančios vidutinės vandens temperatūros mažėja.

Kuršių marios – vienas produktyviausių vandens telkinių Lietuvoje, kuriame sugaunama daug komerciškai svarbių žuvų rūšių. Pastaraisiais dešimtmečiais keičiasi marių produktyvumas ir abiotinės sąlygos (mažėja ledo dangos trukmė, didėja garavimas, vandens temperatūra ir druskingumas). Šie pokyčiai veikia ir mariose gyvenančias žuvis. Tyrimo metu, naudojant ilgamečius (1949–2023 m.) Kuršių marių mokslinių sugavimų duomenis, buvo atlikta didžiąją biomasės dalį sudarančių žuvų rūšių (*Abramis brama*, *Blicca bjoerkna*, *Sander lucioperca*, *Perca fluviatilis*, *Rutilus rutilus*) augimo analizė, nustatyti subrendimo dydžių pasikeitimai bei apskaičiuoti atskirų amžiaus klasių dydžių pokyčiai laike. Naudojant *Von Bertalanffy* augimo lygtį, apskaičiuoti augimo koeficientai parodė, kad pastarąjį laikotarpį, visų tirtų rūšių augimas pagreitėjo, tačiau maksimalus dydis, kurį žuvis galėtų pasiekti, sumažėjo. Bendrojo linijinio modelio logistinės regresijos analizė parodė, kad visos rūšys lytinės brandos sulaukia būdamos mažesnio ilgio. Būdamos mažesnės, jos išneršia mažiau ikrelių.

Norint geriau suprasti, kaip keičiasi ekosistemų produktyvumas, bei numatyti žuvų rūšinės bei dydžių struktūros pokyčius, būtina suprasti dabar vykstančius intensyviai gaudomų rūšių pokyčius laike. Žuvų augimo ir dydžių pasikeitimų žinojimas taip pat padės sukurti tikslesnius daugiaryšius ekosistemų modelius ir prognozuoti Kuršių marių žuvų bendrijos pokyčius ateityje, esant skirtingiems klimato kaitos bei žvejybos scenarijams. Žinant kaip keičiasi žuvų bendrijos dėl tiesioginės ir netiesioginės žmogaus veiklos, bus galima teikti pasiūlymus dėl žuvininkystės valdymo stipriai žmogaus paveiktose ekosistemose, išlaikyti genetinę įvairovę ir nuo jos priklausantį dydžių struktūros įvairovę.

Mikrobiotos-smegenų ašis ir elgsena: motinos riebios dietos įtaka palikuonių neurovystymuisi

Gintarė Urbonaitė¹, Agnė Knyzelienė², Audrey Chagnot³, Adomas Smalskys¹, Maurits A. Jansen⁴, Urtė Neniškytė^{1,5}

¹Biomokslų institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva

²Kardiovaskuliarinių tyrimų centras, Karalienės medicinos tyrimų centras, Edinburgo universitetas, Edinburgas, Didžioji Britanija

³Demencijos tyrimų institutas, Smegenų klinikinių tyrimų centras, Edinburgo universitetas, Edinburgas, Didžioji Britanija

⁴Edinburgo preklinikinių vaizdinimų centras, Karalienės medicinos tyrimų centras, Edinburgo universitetas, Edinburgas, Didžioji Britanija

⁵VU-EMBL partnerystės institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Lietuva

Tikslas. Šiandieninėje įprastoje dietoje yra didelis riebalų kiekis, todėl visame pasaulyje, įskaitant vaisingo amžiaus moteris, didėja nutukimo mastas. Daugėja įrodymų, kad motinos riebi dieta (mRD) padidina riziką susilaukti vaikų turinčių neurovystymosi sutrikimų, tokių kaip autizmo spektro, šizofrenija ar depresija. Vienas iš būdų, kaip mRD gali sutrikdyti palikuonių neurovystymąsi yra pakitusi tiek motinų, tiek palikuonių žarnyno mikrobiota. Mūsų tikslas buvo įvertinti, kaip riebi dieta keičia motinos žarnyno mikrobiotą, dėl kurios keičiasi palikuonių mikrobiota, atsiranda smegenų struktūriniai pokyčiai ir pakinta palikuonių elgesys.

Metodai. C57Bl/6J pelių patelės nuo nujunkymo iki laktacijos pabaigos buvo šeriamos kontroline dieta (KD, 10 % energijos gaunama iš riebalų) arba riebia dieta (RD, 60 % energijos gaunama iš riebalų). Prieš poravimąsi, patelių metabolinė būklė buvo įvertinta pagal kūno masę ir gliukozės bei insulino tolerancijos testus. Palikuonys po nujunkymo buvo šeriami įprasta dieta. Siekiant įvertinti palikuonių smegenų išsivystymą, jaunų (7–9 postnatalinių dienų amžiaus) palikuonių tyrėme socialumą, vertinant ultragarsines vokalizacijas, o suaugusių (nuo 2 mėnesių amžiaus) – baime, lokomociją, socialumą, atmintį, mokymąsi bei kartotinį elgesį. Norint iširti žarnyno mikrobiotą, motinų ir palikuonių aklių žarnų bakterijos buvo nustatytos 16S rRNR amplikono sekoskaitos metodu. PFA perfuzuotos palikuonių smegenys buvo vaizdinamos naudojant T2 svertinį MRT (9,4 T). Smegenų struktūros pokyčiai buvo nustatyti naudojant didelės skyros vokselių morfometriją.

Rezultatai. Nustatėme, kad RD vartojimas sukėlė medžiagų apykaitos sutrikimus motinose ir pakeitė santykinę skirtingų žarnyno bakterijų genčių gausą. mRD pakeitė ir palikuonių žarnyno mikrobiotos sudėtį, o pokyčiai buvo ryškesni mRD moteriškos lyties palikuonyse. Priešingai, mRD sukėlė daugiau struktūrinių pakitimų vyriškos lyties palikuonyse, vyraujančių smegenų srityse, atsakingose už uoslės sistemą. Nepaisant mRD poveikio palikuonims lyties skirtumų, tiek patelių, tiek patinų socialumas sumažėjo.

Išvados. Mūsų tyrime nustatyta, kad mRD pakeitė palikuonių žarnyno mikrobiotą ir sukėlė smegenų struktūrinius pokyčius priklausomai nuo lyties, tačiau abiejų lyčių palikuonims panašiai sumažino socialumą.

Potencialių genetinių žymenų kiaušidžių vėžio diagnostikai ir predikcijai tyrimai

Ieva Vaicekauskaitė^{1,2}, Paulina Kazlauskaitė^{1,2}, Rūta Čiurlienė¹,
Juožas Rimantas Lazutka², Rasa Sabaliauskaitė^{1,2}

¹Nacionalinis vėžio institutas, Vilnius, Lietuva

²Biomokslų institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva

Kiaušidžių vėžys (KV) yra antras daugiausiai mirčių sukeliantis onkologinis susirgimas pasaulyje ir Lietuvoje. Pasaulio sveikatos duomenimis kiekvienais metais nuo KV miršta apie 200 000 pacienčių. Didžioji dalis KV atvejų nustatomi yra aukšto diferenciacijos laipsnio serozinio tipo navikai (HGSOC, angl. *high-grade serous ovarian cancer*), įprastai aptinkami pažengusioje (FIGO III-IV) stadijoje. Nustačius KV FIGO IV stadijoje, 5-erių metų išgyvenamumas siekia vos 20 %. Didelis mirčių ir vėlyvos stadijos atvejų skaičius yra siejamas su ligos simptomų nepasireiškimu iki vėlyvų stadijų bei specifinių diagnostikos metodų trūkumu. Šiuo metu KV dažniausiai yra diagnozuojamas ultragarso ar kitais vaizdinimo metodais. Vienintelis klinikinėje praktikoje naudojamas kraujo serumo biožymuo CA125 pasižymi nedideliu jautrumu todėl yra rekomenduojamas ligos atkryčio ir progresijos stebėsenai, bet ne diagnostikai. KV yra būtini nauji biožymenys kurie padėtų pakeisti klinikinę praktiką ir sumažintų mirčių nuo šios ligos skaičių.

NOTCH ir WNT signaliniai keliai yra svarbūs kiaušidžių formavimuisi vystymosi metu bei ginekologinių navikų kancerogenezei. WNT signalinis kelias valdo NOTCH ligando geno *JAG1* raišką, todėl šie keliai yra susiję. WNT/NOTCH kelio genai *CTNNB1*, *FBXW7* ir *PPP2R1A* pasižymi mutacijomis kiaušidžių navikuose. Dideliu mutacijų kiekiu ginekologiniuose navikuose pasižymi ir chromatino remodeliacijos komplekso genas *ARID1A*, kurio pokyčiai gali būti nustatomi iki pusės visų kiaušidžių navikų ir gali nulemti daugelio su DNR pažaidų taisymu ir genų raiška susijusių funkcijų pokyčius, valdomus SWI/SNF kompleksų.

Tyrimo metu buvo analizuojami *ARID1A*, *CTNNB1*, *FBXW7* ir *PPP2R1A* genų sekos ir *ARID1A*, *CTNNB1*, *FBXW7* ir NOTCH receptorių iRNR kiekio pokyčiai 51 pacienčių, kurioms įtariamas KV audiniuose. Naujos kartos sekoskaitos metodu nustatyta 15 pakitimų 23,5 % (13 / 51) atvejų, iš jų net 80 % (12 / 15) *ARID1A* pokyčių. 66,7 % (6 / 9) ne HGSOC tipo KV atvejų pasižymėjo bent vieno iš analizuotų genų pokyčiais, o 18,8 % (6 / 32) HGSOC atvejais nustatyti *ARID1A* pokyčiai. HGSOC pacienčių audiniuose nustatytas reikšmingai mažesnis *ARID1A*, *CTNNB1*, *FBXW7* ir *NOTCH1-4* genų transkriptų kiekis ($p < 0,01$), o WNT genų *CTNNB1* ir *FBXW7* transkriptų kiekis reikšmingai sumažėjęs HGSOC lyginant su kitais ginekologiniais navikais ($p = 0,02$) ir koreliavo su aukštesne FIGO stadija.

WNT ir NOTCH signalinio kelio ir *ARID1A* genų mutacijų ir iRNR kiekio pokyčiai ateityje galėtų būti naudojami kaip potencialūs KV biožymenys, bet tam reikalingi detalesni tyrimai audiniuose ir kūno skysčiuose, siekiant įvertinti šių pokyčių, kaip potencialų neinvazinių biožymenų potencialą KV ligos diagnostikai ir predikcijai.

BIOTECHNOLOGIJOS IR BIOCHEMIJOS SEKCIJA Biotechnologija

Kamieninės ląstelės: mažos kovotojos su didelėmis problemomis

Povilas Barasa

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras, Biochemijos institutas

Kamieninės ląstelės – organizmo ląstelių populiacija, atsakinga už audinių atsinaujinimą, organų struktūros ir funkcijos palaikymą. Šios ląstelės atlieka savo gyvybiškai svarbią funkciją dalindamosis asimetriškai: viena dukterinė ląstelė išlaiko kamienines savybes, o kita tampa diferencijuota – įgyja audiniui būdingas savybes. Įvairių rūšių kamieninės ląstelės randamos tiek embrionuose, tiek suaugusiuose organizmuose – dantų pulpoje, kaulų čiulpuose, raumenyse ir kitose vietose. Per 40 metų modernių kamieninių ląstelių tyrimų buvo išsiaiškinta apie platų šių ląstelių potencialą biomedicinoje – išskirtos iš pacientų organizmo, jos pasižymi regeneracinėmis ir priešuždegiminėmis savybėmis, gali būti pritaikytos inovatyviuose gydymo technologijose, tokiose kaip audinių inžinerija ar ląstelių nukreipta terapija. Nėgana to, atrasti būdai kaip organizmo nekamienines ląsteles (pvz., odos) paversti kamieninėmis. Pastaraisiais dešimtmečiais pasaulyje vykdyta keli šimtai klinikinių tyrimų naudojant įvairių rūšių kamienines ląsteles, daugiausiai – ieškant būdų gydyti neurologines, sąnarių ir kardiovaskuliarines ligas. Kamieninės ląstelės pasitarnauja gydant ligas tiek tiesioginiu poveikiu pažeidimų vietoje (regeneracijos metu virsdamos į sveiko audinio ląsteles), tiek netiesioginiu poveikiu, kai terapinį efektą sukelia jų pagamintos medžiagos (baltymai, mikro RNR ar kitos). Kamienines ląsteles taip pat galima panaudoti gaminant dirbtinius audinius. Naudojant ląsteles ir įvairias biosuderinamas struktūras medžiagas, nūdienos technologijos leidžia sukurti tiek sąlyginai paprastus audinius, kaip odos, tiek sudėtingus, kaip širdies. 3D biospausdinimo ir lazerinės technologijos leidžia sukurti dirbtinius audinius, kurių makro ir mikrostruktūra atitinka natūralių audinių parametrus. Kamieninių ląstelių produktai – jų išskiriamų molekulių visumos (sekretomo) komponentai – pasižymi žaizdas gydančiu, priešfibroziniu ir kitais teigiamais poveikiais. Pastaraisiais metais atkreiptas dėmesys į kamieninių ląstelių vaidmenį senėjimo procesuose. Šios ląstelės, kaip organizmo audinių atsinaujinimo šaltinis, neabejotinai turi reikšmę su organizmo amžiumi susijusiuose procesuose, tokiuose kaip sisteminis uždegimas, medžiagų apykaitos sulėtėjimas ir bendra audinių degeneracija. Deja, nepaisant didelio tyrimų kiekio, nemažai tyrėjų susiduria su nesėkmėmis, sąlygotomis kamieninių ląstelių šaltinio variabilumo ir nevienareikšmių gydymo rezultatų. Gilesnis šių ląstelių pažinimas, jų genetikos, struktūros ir funkcijos supratimas leistų ateityje taikyti pažangesnius gydymo metodus, užkirsiančius kelią šiuo metu nepagydomoms ligoms ir prailginsiančius kokybiško žmonių gyvenimo trukmę.

Į virusus panašios dalelės ir jų pritaikymas alergenų specifinei imunoterapijai

Laima Čepulytė

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Alergija yra perdėtas imuninis atsakas į iš išorės patekusias daugeliui žmonių nepavojingas medžiagas¹. Per paskutiniuosius dešimtmečius sergamumo lygis alergijomis ženkliai išaugo ir, Pasaulio sveikatos organizacijos duomenimis, 2050-aisiais metais kas antras žmogus pasaulyje sirgs alerginėmis ligomis². Kol kas vienintelis gydymo metodas, galintis sukelti imuninės sistemos toleranciją tiksliniam alergenui, yra alergenų specifinė imunoterapija (ASIT)³. Nepaisant privalumų, šis gydymo metodas turi ir trūkumų tokių kaip ilgas gydymo procesas ir šalutiniai poveikiai. ASIT atliekama naudojant natūralius alergenų ekstraktus, kurie yra sunkiai standartizuojami bei gali būti užteršti alergenais iš kitų šaltinių ir nealerginėmis medžiagomis, galinčiomis sukelti nepageidaujamas imuninės sistemos reakcijas. Ekstraktų sudėtis gali skirtis tarp gamybos partijų ir tam tikrų alergenų komponentų koncentracija ekstrakto gali būti itin maža arba jų gali iš viso nebūti^{4,5}. Šie veiksniai yra kritiniai siekiant užtikrinti sėkmingą gydymą.

Siekiant padidinti ASIT efektyvumą ir saugumą, kuriamos įvairios strategijos. Viena iš tokių strategijų yra rekombinantinių alergenų komponentų ir į virusus panašių dalelių (VPD) panaudojimas. Į virusus panašios dalelės – tai savaime susirenkančios baltyminės nanostruktūros, sudarytos iš virusinių baltymų, tačiau neturinčios viruso genetinės medžiagos, todėl neinfektyvios. VPD pritaikymas gali padėti efektyviau pateikti alergenų imuninei sistemai bei sukurti saugesnį gydymo metodą – alergenai, sujungti su VPD, negali pacientui sukelti anafilaksinio šoko. Alergenų komponentai su į virusus panašiomis dalelėmis gali būti sujungti taikant skirtingas strategijas – pateikiami VPD paviršiuje, supakuoti VPD viduje arba pacientui gali būti pateikiamas alergenų komponentų ir VPD mišinys⁶. Skirtingų VPD ir alergenų komponentų išbandymas bei jų sujungimo strategijų tyrimai yra svarbūs siekiant sukurti naujas platformas efektyvesnei ASIT.

Šaltiniai:

1. Dougherty J. M., Alsayouri K., Sadowski A. 2023. *Allergy*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
2. Dbouk T, Visez N, Ali S, Shahrour I, Drikakis D. Risk assessment of pollen allergy in urban environments. *Sci Rep*. 2022;12(1):21076.
3. Kucuksezer UC, Ozdemir C, Cevherdas L, Ogulur I, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and allergen tolerance. *Allergol Int*. 2020;69(4):549-560.
4. Valenta R, Karaulov A, Niederberger V, et al. Allergen Extracts for In Vivo Diagnosis and Treatment of Allergy: Is There a Future? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(6):1845-1855.
5. Barber, D., Diaz-Perales, A., Escribese, M. M., Kleine-Tebbe, J., Matricardi, P. M., Ollert, M., Santos, A. F., & Sastre, J. (2021). Molecular allergology and its impact in specific allergy diagnosis and therapy. *Allergy*, 76(12), 3642–3658.
6. Anzaghe M, Schülke S, Scheurer S. Virus-Like Particles as Carrier Systems to Enhance Immunomodulation in Allergen Immunotherapy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018;18(12):71.

Glikoinžinerija antikūnų-vaistų konjugatų sintezei

Dovilė Daunoraitė¹, G. Šutov², I. Matijošytė¹

¹Taikomosios biokatalizės sektorius, Biotechnologijos institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius

²UAB „Genie Biotech EU“, Vilnius

Antikūnų-vaistų konjugatai (AVK), kaip efektyvios terapinės priemonės įvairioms ligoms gydyti, mokslo bendruomenę pradėjo dominti jau prieš keletą dešimtmečių. Viena iš pagrindinių antikūnų savybių, leidžiančių pasiekti reikšmingų farmakologinių rezultatų, yra aukštas specifškumas taikiniui. Šis bruožas gali itin pasitarnauti onkologijos srityje, dėl galimybės atskirti sveikas paciento ląsteles nuo piktybinių. Visgi, tikslus pageidaujamų vaistinių junginių pristatymas į ląstelinį taikinį neapsiriboja vien antivėžiniais preparatais – daugybė skirtingų molekulių gali būti konjuguojamos su antikūnais. Šiuo metu didžioji dalis licencijuotų AVK yra paremti reakcija tarp vaistinės medžiagos ir ant antikūno paviršiaus esančių lizino aminorūgščių liekanų arba redukuotų disulfidų tiolinių grupių. Šie metodai nėra tobuli, nes susidarę AVK dažnu atveju yra linkę agreguoti, gali pasižymėti žemu efektyvumu, yra sunkiai toleruojami ir greitai pašalinami iš organizmo.

Mūsų tyrimų tikslas yra sukurti technologiją, leidžiančią kontroliuojamą vaistų prijungimą tikslinėse antikūno vietose. Viena iš strategijų šiam tikslui pasiekti yra konjugavimas per rekombinantinio antikūno paviršiuje esančius N-glikanus. Tyrimams buvo pasirinktas modelinis žmogaus imunoglobulino IgG1 Fc regionas, šio baltymo sintezei naudojant *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) mielių ląsteles. Pasitelkiant genų inžinerijos metodus, kamienas modifikuojamas, siekiant įterpti genus, koduojančius konjugacijos procese dalyvaujančius fermentus. Šių fermentų pagalba yra keičiamas mielių baltymų glikozilinimo kelias, siekiant sudaryti sąlygas efektyviai AVK sintezei.



Genetiškai koduojamas fosfatidilserino biojutiklis *in vitro*, *ex vivo* ir *in vivo* žymėjimui

Eimina Dirvelytė

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras

Eukariotinių ląstelių plazminėje membranoje svarbi fosfatidilserino (PS) lokalizacijos dinamika. Įprastai PS yra išsidėstęs vidiniame plazminės membranos sluoksnyje. Po specifinių signalų ląstelėje PS perkeliamas į ląstelės išorę. Eksponuotas PS yra svarbus signalas daugelyje procesų. Visų pirma, PS ekspozicija inicijuoja žūstančių ląstelių pašalinimą fagocitozės būdu. Eksponuotas PS taip pat reguliuoja ląstelių tarpusavio sąveiką, specifinę aktyvaciją bei įvairių audinių vystymąsi. Todėl norint stebėti ir tirti tokius procesus reikalingas specifiskas PS žymuo. Šiuo metu rinkoje yra įvairių įrankių, pagrįstų baltymais ar organiniais junginiais. Vis dėlto, visi žymenys turi atitinkamų trūkumų: nespecifinė sąveika su kitais fosfolipidais, didelis foninis dažymas ar negalimas žymėjimas gyvoose ląstelėse ir audiniuose. Vienas iš svarbiausių trūkumų – neefektyvus *in vivo* žymėjimas, kadangi naudojamos audinį pažeidžiančios injekcijos gali sukelti PS eksponavimą.

Šio tyrimo metu sukūrėme genetiškai koduojamą, laktadherino (MFG-E8) baltymo C2 domenu pagrįstą PS žymėjimo įrankį, kuris gali būti pritaikomas PS eksponavimo procesams įvairiuose tyrimų modeliuose stebėti. Sukurtų biojutiklių struktūros modeliuotos bioinformatiniais įrankiais patvirtinant jų galimą struktūrinį integralumą. Biojutiklių rekombinantiniai baltymai buvo naudojami *in vitro* eksperimentams, o genetiškai koduojami įrankiai – *ex vivo* ir *in vivo* pritaikymams. Biofizikinės analizės metu nustatytas C2 domeno specifiskumas PS bei įrodyta, jog sulieti baltymai su fluorescencinėmis žymėmis C2-SNAP ir C2-mKate išlaiko šią savybę. Šie baltymai efektyviai žymėjo ant apoptozinių ląstelių paviršiaus eksponuojamą PS skirtingose ląstelių kultūrose. Taip pat pritaikėme audinių nepažeidžiančią DNR pristatymo į audinius platformą – rekombinantinius AAV. C2 domeno sulietų konstrukty sekos, pristatytos AAV, žymi apoptozines ląsteles audinių kultūroje. Todėl sukurti C2 domeno konstrukty yra tinkama eksponuoto PS žymėjimo sistema tiek *in vitro* ląstelių kultūroje, tiek *ex vivo* audiniuose. Be to žymenys gali būti naudojami ir toliau tiriama *in vivo*, kadangi stebėta efektyvi sulietų C2 žymenų raiška smegenyse po intraveninės AAV injekcijos pelėse.

Mikroklamos įvertinimas diferencijuotose mezenchiminėse kamieninėse ląstelėse taikant klampai jautrius fluoroforus

Džiugas Jurgutis^{1,2}, Greta Butkienė¹, Aurimas Vyšniauskas³,
Ričardas Rotomskis^{1,4}, Vitalijus Karabanovas^{1,5}

¹Biomedicininės fizikos laboratorija, Nacionalinis vėžio institutas, Vilnius, Lietuva

²Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva

³Molekulinių darinių fizikos skyrius, Fizinių ir technologijos mokslų centras, Vilnius, Lietuva

⁴Biofotonikos grupė, Lazerinių tyrimų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva

⁵Chemijos ir bioinžinerijos fakultetas, Vilniaus Gedimino technikos universitetas, Vilnius, Lietuva

Diferenciacija lemia ląstelių biocheminius, morfologinius ir biomechaninius pokyčius. Vienas pagrindinių ląstelės biomechaninių parametru – mikroklampa, kuri itin svarbi užtikrinant struktūrinę ir funkcinę ląstelės komponentų pusiausvyrą, reguliuojant biologinių molekulių difuziją ir keičiant ląstelių elgseną. Mikroklamos įvertinimas prieš ir po diferenciacijos leistų tiksliau charakterizuoti kamienines ląsteles, pavyzdžiui, mezenchimines kamienines ląsteles (MKL), kurios geba diferencijuoti į riebalinio, kaulinio arba kremzlinio audinio ląsteles.

Šiame darbe pasirinktos tirti žmogaus MKL ir jų adipogeninė, osteogeninė ir chondrogeninė diferenciacijos. Siekiant įvertinti šių ląstelių mikroklampą taikomas boro dipirometeno (BODIPY) pagrindu susintetintas klampai jautrus fluoroforas BDP-H. Ankstesniuose tyrimuose įrodytas BDP-H jautrumas klampai, iširtos optinės savybės ir molekulė pritaikyta mikroklamos nustatymui vėžinėse ląstelėse [1,2]. BDP-H fluorescencijos gyvavimo trukmės ląstelių viduje leidžia išmatuoti fluorescencijos gyvavimo trukmės vaizdinimo mikroskopija (FLIM). Naudojantis kalibracine kreive, gauta jau žinomos klamos organinių tirpiklių mišiniuose, su FLIM išmatuotos gyvavimo trukmės paverčiamos į mikroklamos vertes ir taip sudaromi viduląsteliniai mikroklamos „žemėlapiai“.

Šio darbo tikslas – įvertinti organelių, kuriose susikaupia BDP-H, mikroklampą diferencijuotose žmogaus MKL.

Lokalizacijos tyrimai parodė, kad BDP-H susikaupia žmogaus MKL lipidinėse pūselėse, todėl molekulė gali būti taikoma lipidinių pūslelių mikroklamos įvertinimui. Taip pat, nustatyta, kad po žmogaus MKL diferenciacijos trimis kryptimis, lipidinių pūslelių mikroklampa reikšmingai sumažėjo adipocituose ir chondrocituose, o osteoblastuose išliko nepakitusi lyginant su nediferencijuotomis MKL. Galiausiai, lipidinių pūslelių mikroklampa diferencijuotose žmogaus MKL nepakito, nepriklausomai nuo audinio tipo, iš kurio buvo išskirtos MKL.

Literatūra

[1] Toliautas, S. et al. Enhancing the Viscosity-Sensitive Range of a BODIPY Molecular Rotor by Two Orders of Magnitude. *Chemistry – A European Journal* 25, 10342–10349 (2019).

[2] Jurgutis, D. et al. Exploring BODIPY-Based Sensor for Imaging of Intracellular Microviscosity in Human Breast Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 5687 (2022).

Plastikas ir biokatalizė: poliuretano biodegradacijos tyrimas

Jokūbas Krutkevičius, I. Matijošytė

Taikomosios biokatalizės sektorius, Biotechnologijos institutas,
Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius

Įvairių plastikų ir sintetinių polimerų atliekų tvarkymas ir jų sukeliama tarša yra opi aplinkosauginė problema. 2015 m. Jungtinių Tautų priimtame „Keiskime mūsų pasaulį: Darnaus vystymosi darbotvarkė iki 2030 metų“ dokumente 12-tas darnaus vystymosi tikslas ir 12.5-tas uždavinys įpareigoja šalį reikšmingai sumažinti generuojamų atliekų kiekį. To įmanoma pasiekti įvairiais būdais, o vadovaujantis žiedinės ekonomikos principais, atliekos gali tapti ne problema, bet ir vertingu resursu. Naujausi moksliniai atradimai ir technologijos leidžia ne tik perdirbti atliekas, bet ir iš jų sukurti papildomą vertę (angl. *upcycle*). Cheminiai atliekų tvarkymo metodai, nors ir efektyvūs, turi didelių trūkumų, tokių kaip procesų metu papildomai generuojamos cheminės atliekos ar dideli energijos kaštai. Biokataliziniai metodai leistų atliekas perdirbti švelnesnėmis sąlygomis, naudojant fermentus. 2020 metais įvyko proveržis plastikų perdirbimo srityje – buvo identifikuota nauja hidrolazė, suskaldanti polietileno tereftalatą iki pirminių jo sintezės komponentų per greičiau nei 10 valandų (Tournier, 2020). Šis perdirbimo būdas jau yra išbandomas demonstraciniu lygiu. Kitų tipų plastikai vis dar nėra perdirbami biotatalizininiais metodais dėl tinkamų fermentų trūkumo.

Šio tyrimo objektas yra poliuretanas (PU) ir jo biodegradacija. Šis polimeras Europoje sudaro 5,5% visų pagaminamų plastikų (Plastics Europe 2022). Tai viena iš pačių universalusių medžiagų, iš kurios gaminamos baldų detalės, čiužiniai, automobilių komponentai, statybinės medžiagos. Kita vertus, PU biodegradacija ir už tai atsakingi fermentai nėra plačiai ištirti, todėl yra įdomūs tiek fundamentiniu, tiek ir taikomojo požiūriu.

Tyrimo metu buvo sukurtos terpės skirtos PU biodegradacijai nustatyti. Naudojantis šiomis terpėmis buvo identifikuoti PU degraduojantys mikroorganizmai iš įvairių aplinkos mėginių: dirvožemio, Baltijos jūros vandens ir kitų. Iš viso buvo identifikuota virš dvidešimt skirtingų bakterijų, mielių ir filamentinių grybų gebančių skaidyti poliuretaną.

Paraleliai buvo atliekami tyrimai su rekombinantine uretanaze, hidrolizuojančia uretaninį ryšį. Šis ryšys yra būdingas visų tipų PU ir jo hidrolizė turi potencialo būti pritaikyta PU perdirbimo procese. Uretanazės geno seka buvo išgauta ištyrimo metu išskirto *Lysinibacillus* sp. kamieno. Buvo atlikta uretanazę koduojančio geno raiška dviejuose raiškos organizmuose, bakterijoje *E. coli* ir mielėje *Pichia pastoris*. Taip pat buvo tiriamos įvairios strategijos fermento aktyvumui ir tirpumui padidinti: optimizuojamos raiškos sąlygos, naudojamas tirpumą galintis padidinti baltymas nešėjas, kt. Detaliau tyrimo rezultatai bus pristatyti konferencijos metu.

Tournier et al. Nature 580, 216–219 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2149-4>

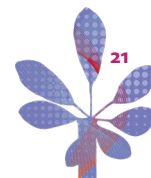
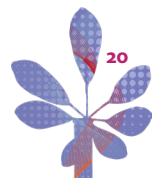
Plastics Europe 2022 ataskaita, <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/> [nuoroda tikrinta 2023.10.10]

Transliacijos slopinimas priešvirusinėje CRISPR-Cas gynyboje

Irmantas Mogila, Giedrė Tamulaitienė, Konstanty Keda, Albertas Timinskas, Audronė Rukšėnaitė, Giedrius Sasnauskas, Česlovas Venclovas, Virginijus Šikšnys, Gintautas Tamulaitis
Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras

Bakterijų ir archėjų bei jas puolančių virusų koevoliucijos eigoje prokariotai išvystė daugybę gynybos sistemų suteikiančių apsaugą įvairiose viruso infekcijos stadijose. Viena iš labiausiai paplitusių tokių sistemų yra CRISPR-Cas. Iš Cas baltymų ir trumpos CRISPR RNR sudaryti kompleksai specifiskai atpažįsta ir sunaikina į ląstelę patekusias svetimias nukleorūgštis. III tipo CRISPR-Cas sistemose efektorinis kompleksas Csm/Cmr yra nukreiptas prieš užpuoliko RNR. Prisijungęs prie sintetinio transkripto Csm/Cmr kompleksas aktyvinasi ir sunaikina tiek surištą RNR, tiek RNR polimerazės išstumtą DNR grandinę. Infekcijos metu Csm/Cmr kompleksai taip pat iš ATP sintetina signalines molekules – 3–6 narių dydžio ciklinius oligoadenilatus (cA_{3-6}), kurie aktyvina su III tipo CRISPR-Cas susijusius pagalbinius baltymus per jų CARF domeną. Struktūriškai ir funkciškai gerai charakterizuoti CARF baltymai, sulieti su HEPN RNaziniu arba PD-(D/E)XK DNaziniu domenais, kurie suteikia papildomą apsaugą populiacijos lygmenyje sukeldami infekuotų ląstelių žūtį, tačiau su kitokiais domenais sulietų CARF baltymų rolės CRISPR-Cas gynyboje nėra žinomos.

Šio darbo metu atlikę kompiuterinę sekų analizę suradome grupę CARF baltymų, kurie yra sulieti su į RelE šeimos toksinus panašiais domenais. Kadangi RelE šeimai priklauso prokariotiniai toksinai, kurie dėka mRNR interferazinio aktyvumo hidrolizuoja transliuojamą mRNR, savo tiriamus baltymus pavadino Cami1 (angl. *CRISPR-Cas-associated mRNA interferase 1*). Mes nustatėme, kad cA_4 aktyvinti Cami1 baltymai specifiskai hidrolizuoja ribosomų surištą mRNR *in vitro* bei *in vivo* ir taip slopina transliaciją. Pasitelkę rentgeno spindulių difrakcijos ir elektronų kriomikroskopijos (cryo-EM) metodus nustatėme, kad cA_4 surišęs Cami1 pakeičia konformaciją ir prisijungia prie ribosomos A saito per bL12 baltymą, imituodamas transliacijos faktorių patekimą į ribosomą. Parodėme, kad Cami1 geba sukirti aktyvatorių cA_4 , kas užtikrina laikiną transliacijos slopinimą tik infekcijos metu. Kartu šie duomenys leido pasiūlyti detalų Cami1 veikimo mechanizmą, iliustruojantį prokariotinių gynybos sistemų įvairovę.



MEDICINOS IR SVEIKATOS MOKSLŲ SEKCIJA Medicina

Plaučių mikrobiotos sudėtis ir pokyčiai sergant nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžiu

Vytautas Ankudavičius¹, Darja Nikitina², Rokas Lukoševičius², Skaidrius Miliauskas¹, Jurgita Skiecevičienė², Marius Žemaitis¹, Juozas Kupčinskas^{2,3}

¹Pulmonologijos klinika, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

²Virškinimo sistemos tyrimų institutas, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

³Gastroenterologijos klinika, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Įvadas. Ilgą laiką plaučiai buvo laikomi steriliu organu, tačiau naujos genominės mikroorganizmų tyrimų technologijos nustatė, kad plaučiuose egzistuoja įvairios mikroorganizmų rūšys. Pastaraisiais metais atliekama vis daugiau apatinių kvėpavimo takų mikrobiomo tyrimų, kuriuose pateikiami bakterijų kompozicijos pokyčiai tarp sveikų savanorių ir plaučių ligomis sergančių asmenų, įskaitant ir plaučių vėžio atvejus. Atliktų tyrimų rezultatai parodė, kad *Streptococcus*, *Enterobacter*, *Veillonella*, *Legionella* ir *Megasphaera* bakterijų rūšys gali būti susijusios su plaučių vėžio išsivystymu. Tačiau duomenys yra kontraversiški, kadangi yra autorių, kurie minėtas bakterijas įvardija kaip sveikų asmenų plaučių mikrobiomo dalį.

Tikslas. Tyrimo tikslas buvo ištirti nesmulkiąstelinį plaučių vėžiu (NSLPV) sergančių pacientų plaučių ir žarnyno mikrobiomos kompoziciją, ją palyginti su kontroline grupe bei įvertinti mikrobiomo ryšį su klinikiniais parametrais ir molekuliniais žymenimis.

Metodai. Perspektyvinis tyrimas atliktas 2019–2023 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Pulmonologijos klinikoje ir Virškinimo sistemos tyrimų institute, gavus biomedicininį tyrimų etikos komiteto leidimą. Tyrimo laikotarpiu buvo įtraukta daugiau kaip 200 tiriamųjų, iš kurių galutinė statistinė analizė atlikta su 74 plaučių navikinio audinio, 54 plaučių parenchimos biopsijų ir 55 išmatų mėginiais, paimtais iš NSLPV pacientų bei 50 kontrolinės grupės pacientų išmatų mėginių. Mikrobiomos indentifikavimui buvo panaudota 16S rRNR V1–V2 regionų sekos nustatymo technologija, molekuliniai ir laboratoriniai žymenys buvo įvertinti komerciniais rinkiniais pagal gamintojo instrukcijas.

Rezultatai. Bakterijų sekoskaitos analizė parodė 56 statistiškai reikšmingus bakterijų skirtumus visuose taksonominiuose lygmenyse tarp plaučių naviko ir plaučių parenchimos audinių bei 17 statistiškai reikšmingų bakterijų skirtumų tarp NSLPV ir kontrolinės grupės išmatų mėginių. Bakterijų α įvairovės analizė buvo nustatyta, kad NSLPV pacientų, sergančių plaučių adenokarcinoma palyginti su plokščiųjų ląstelių karcinoma, bakterijų gausa ir Simpsono indeksas išmatų mėginiuose buvo statistiškai reikšmingai didesnis (atitinkamai $p = 0,027$, $p = 0,034$). β įvairovės analizė atskleidė, kad rūkančiųjų plaučių naviko audiniai buvo praturtinti *Alloprevotella tanneriae* ir *Streptococcus salivarius*, palyginti su nerūkančiaisiais. Išgyvenamumo analizė parodė, kad NSLPV sergančiųjų pacientų, kurių Simpsono indeksas išmatų mėginiuose viršijo medianą, bendras išgyvenamumas buvo statistiškai reikšmingai ilgesnis, palyginti su tais NSLPV pacientais, kurių Simpsono indeksas buvo mažesnis ($p = 0,0426$).

Išvados. Nustatėme statistiškai reikšmingą ryšį tarp NSLPV sergančiųjų mikrobiomo kompozicijos ir rūkymo įpročių, histologijos tipo, naviko diferenciacijos laipsnio, CD8+ ląstelių kiekio, bakterijų endotoksino ir išgyvenamumo duomenų. Be to, išgyvenamumo analizė parodė, kad didesnis bakterijų gausumas buvo susijęs su ilgesniu NSLPV pacientų išgyvenimu.

Knarkimas ir REM miego trūkumas yra susiję su kitos dienos prieširdinėmis aritmijomis: TriggersAF prieširdžių virpėjimo kohortos tyrimas

Justinas Bacevičius

Vilniaus universitetas

Tikslas. TriggersAF tyrime (NCT05526170) ieškoma laiko sąsajos tarp prieširdžių aritmijų ir galimų provokuojančių veiksnių. Preliminarioje analizėje keliami hipotezė, kad knarkimas ir miego fazių sutrikimai gali būti susiję su sekančios dienos prieširdžių aritmijomis.

Metodai. Prospektyviniame kohortiniame tyrime atliktas 7 dienų namų monitoringas įtraukiant pacientus, kuriems anksčiau diagnozuotas paroksizminis ar persistuojantis prieširdžių virpėjimas (PV). Širdies ritmas dokumentuotas vienos derivacijos elektrokardiogramos (EKG) prietaisu (Bittium, Kuopio, Finland). Įrašai rankiniu būdu suanotuoti kaip: 1) PV, 2) prieširdžių tachikardija arba plazdėjimas (PT), 3) dažnos prieširdinės ekstrasistolės (PrEx), apibrėžiamos kaip bigeminija, trigeminija, kvadrigeminija arba kupletai, ir 4) nėra aritmijos. Miego sutrikimai buvo įvertinti naudojant validuotą miego monitoravimo kilimėlį (Withings Sleep Analyzer, Issy-les-Moulineaux, France) ir apibūdinti kaip knarkimo epizodų skaičius, knarkimo trukmė, lengvo, gilaus ir greito akių judesių (REM) fazės. Kairiojo prieširdžio (KP) savybės apibūdintos širdies echoskopijos taškelių žymėjimo metodu.

Rezultatai. Tyrime dalyvavo 49 pacientai (55,8 ± 1,7 m., 67,3 % vyrai). Būtina įtraukimo momento sąlyga – visiems dalyviams stebėtas sinusinis ritmas. Bendra monitoravimo trukmė sudarė 300 dienų. PV, PT ir PrEx aritmijos aptiktos atitinkamai 32/300, 108/300 ir 85/300 dienų.

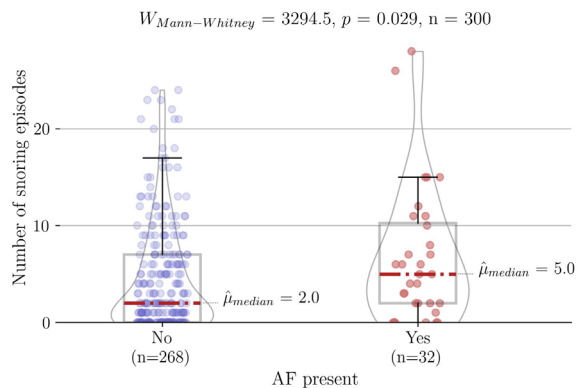
Miego analizėje didesnis knarkimo epizodų skaičius buvo susijęs su sekančios dienos PV epizodais (5,0 (2–10,2) vs. 2,0 (0–7), $P = 0,029$). Ilgesnė knarkimo trukmė buvo susijusi su sekančios dienos PV epizodais (36 (6–80) min. vs. 12 (0–52) min., $P = 0,057$). Trumpesnė REM fazės trukmė buvo susijusi su PT (63 (28–93) min. vs. 79 (42–105) min., $P = 0,032$) ir PrEx (60 (32–91) min. vs. 79 (37–102) min., $P = 0,058$). Nepastebėta reikšmingų sąsajų tarp paviršinės ar giliosios miego fazės bei bet kokio tipo aritmijų.

Echoskopiškai mažesnė vidutinė KP konduitinė deformacija buvo būdinga pacientams su PV (-7,5 (-12,5, -7,5)) lyginant su pacientais, kuriems PV nepasireiškė (-11,0 (-14,8, -8,5), $P = 0,002$). Tiksliausias statistinis modelis, skirtas PV prognozuoti, gautas apjungiant mažesnę nei -9 vidutinę konduitinę deformaciją, didesnę nei 27,8 kūno masės indeksą ir ilgesnę nei 29 minučių knarkimo trukmę. Šie parametrai lėmė 97 % jautrumo, 59 % specifškumo ir 78 % subalansuoto tikslumo prognozę.

Išvados. Dažnesnis ir ilgesnės trukmės knarkimas bei sumažinta REM miego fazės trukmė siejasi su sekančios dienos prieširdinėmis aritmijomis. Ilgalaikis miego monitoravimas bei echoskopinė KP deformacija leidžia prognozuoti būsimus PV epizodus.

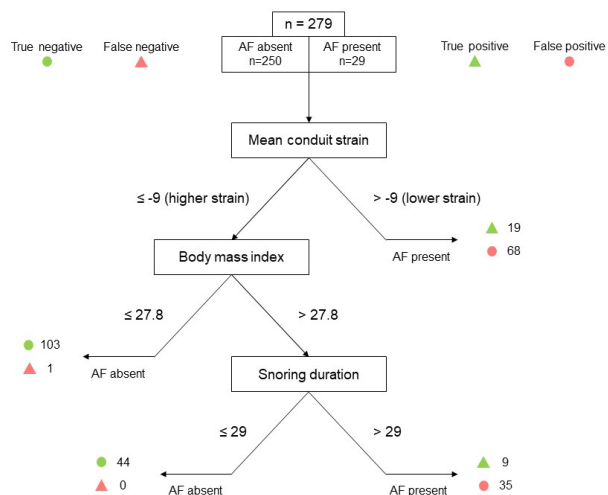
Finansavimas: Europos regioninės plėtros fondas (01.2.2-LMT-K-718-03-0027) pagal dotacijos sutartį su Lietuvos mokslo taryba.

→



Number of snoring episodes vs. AF

Rank biserial dydis dar parodytų kiek stipriai skiriasi abu parametrai. O M-W rodo tik apskritai priklausomybę.



	TRUE	FALSE
TRUE	28	103
FALSE	1	147

sensitivity	specificity	accuracy	balanced accuracy
97	59	63	78

AF by LA strain, BMI and snoring

Introduction

Sleep-disordered breathing (SDB) is a known risk factor for the development of atrial fibrillation (AF). Few studies analyse the temporal relation between snoring, sleep phases and atrial arrhythmia episodes.

Širdies ritmo kitimo analizė pritaikant modelį: paklaidos irgi gali būti prasmingos

Mindaugas Baranauskas

Biomedicininės inžinerijos institutas, Kauno technologijos universitetas

Širdies ritmo (ŠR) reguliavimas apima įvairias pakopas nuo širdies vidinės nervų sistemos iki galvos smegenų žievinių struktūrų. Žemesnės ŠR reguliavimo pakopos paprastai yra labiau determinuotos, o iš jų kvėpuojamoji sinusinė aritmija (KSA) ir barorefleksas paaiškina didelę dalį ŠR svyravimų, tačiau ne visus. Šiuolaikinė neurokardiologija tik pastarąjį dešimtmetį ėmė labiau pripažinti galvos smegenų žievės ir kitų aukštesnių nervinės reguliacijos pakopų, esančių virš pailgųjų smegenų, įtaką ŠR kitimui ir kai kurių širdies veiklos sutrikimų atveju. Tad širdies ritmo kitimo tyrinėjimo tikslais SIMULINK aplinkoje išplėtotas personalizuojamas ŠR reguliavimo modelis, apimantis ne tik KSA ir vagusinio bei simpatinio širdies barorefleksų mechanizmus, bet taip pat ir iš aukštesnių galvos smegenų sričių ateinančio toninio parasimpatinio ir simpatinio aktyvumo parametrus. Taip pat MATLAB aplinkoje sukurta kompiuterinė sistema „Ritminukas“, kuri integruoja šį modelį, personalizuoja jo parametrus ir išduoda ŠR svyravimų paklaidas, tiksliau – kardiogramos R dantelių prasislinkimus, kurių negalima paaiškinti KSA ir barorefleksų mechanizmais, atsižvelgiant į tikrųjų R dantelių išsidėstymą laike ir panaudojant užregistruotus kvėpavimo bei kraujo spaudimo signalus. Tokia metodika padeda modeliavimo paklaidose išvengti prasmingus toninius, periodinius 0,1 Hz, ir spontaniškus ŠR svyravimus. Nors modelyje spontaniškas ar net toninio lygio ŠR paklaidos analizuojant sveiko žmogaus širdies ritmą gali būti siejamos su aukštesnės nervinės veiklos pokyčiais, tačiau analizuojant širdies ir kraujagyslių ligomis (pvz., aritmija) sergančiųjų duomenis, paklaidos galėtų būti siejamos taip pat ir su reguliacijos sutrikimais žemesnėse ŠR reguliavimo pakopose.

Projekto finansavimas: ES struktūrinių fondų projektas, finansuojamas Europos socialinio fondo lėšomis pagal 2014–2020 metų Europos Sąjungos fondų investicijų veiksmų programos priemonės Nr. 09.3.3-LMT-K-712 veiklą „Stažuočių po doktorantūros studijų skatinimas“.

Autosominė dominantinė policistinė inkstų liga: klinikinių duomenų ir variantų analizė *PKD1* gene

Deimantė Braždžiūnaitė¹, Marius Miglinas², Algirdas Utkus¹

¹Biomedicinos mokslų institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas

²Klinikinės medicinos institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas

Įvadas. Autosominė dominantinė policistinė inkstų liga (angl. autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD; OMIM #173900) yra viena dažniausių paveldimų ligų, kuriai būdingas daugybinių cistų inkstuose susidarymas. Dažniausiai šią ligą lemia *PKD1* geno patogeniniai variantai, kurių ADPKD variantų duomenų bazėje skaičiuojama daugiau nei 1200.

Tikslas. Nustatyti *PKD1* geno variantus pacientams su daugybinėmis inkstų cistomis ir apibendrinti jų klinikinius požymius.

Metodai. Į tyrimą įtraukti 57 probandai (53 šeimos), kuriems nustatytos daugybinės inkstų cistos. Probandams atliktas 498 inkstų ligų genų rinkinio tyrimas naujos kartos sekoskaitos metodu, apimant pagrindinius policistinės inkstų ligos genus *PKD1*, *PKD2*, *PKHD1*, *ALG5*, *DZIP1L*, *DNAJB11*, *GANAB*. Giminaičiams atliktas šeiminių variantų tyrimas Sanger sekoskaita. Analizuotas tiriamųjų genotipas bei fenotipas. Variantų patogeniškumas buvo vertintas naudojantis Varsome prognostiniu įrankiu.

Rezultatai. 34 tiriamiesiems (31 šeimai) nustatyti variantai *PKD1* gene, iš kurių 16 literatūroje neaprašyti. Iš jų 9 pacientų šeiminei anamnezė buvo neinformatyvi. 25 (73,5 proc.) pacientams pasireiškė hipertenzija, 21 (61,8 proc.) pacientui nustatytos daugybinės kepenų cistos, o galvos smegenų aneurizmos – 5 pacientams (14,7 proc.). Penkiems (14,7 proc.) pacientams nustatyta galutinės stadijos lėtinė inkstų liga arba jau atlikta inksto transplantacija. Įvertinus variantų patogeniškumą, nustatyti 25 patogeniniai / tikėtina patogeniniai variantai, 3 neaiškios klinikinės reikšmės / tikėtina patogeniniai variantai bei 3 neaiškios klinikinės reikšmės variantai. 12 probandų patogeninių / tikėtina patogeninių ar kitų su fenotipu galimai susijusių variantų tirtuose genuose nebuvo nustatyta, tačiau daliai jų kliniškai policistinė inkstų liga nebuvo nustatyta arba nustatyta atipinė ligos forma.

Išvada. Atliktu tyrimu daugumai šeimų nustatyta genetinė diagnozė, o analizuotiems tiriamiesiems nustatyti ADPKD būdingi požymiai. Visi tyrimu nustatyti *PKD1* geno variantai unikalūs ir tarp šeimų nesikartojo.

Frakcinio tėkmės rezervo ir intravaskulinio ultragarsinio tyrimo įtaka funkciniam perkutaninės koronarinės intervencijos rezultatui gydant ilgus vainikinių arterijų pažeidimus

Povilas Budrys^{1,2}, Arvydas Baranauskas^{1,2}, Giedrius Davidavičius^{1,2}

¹Širdies ir kraujagyslių ligų klinika, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva

²Kardiologijos ir angiologijos centras, Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikos, Vilnius, Lietuva

Įžanga. Ilgų vainikinių arterijų (VA) susiaurėjimų perkutaninė koronarinė intervencija (PKI) susijusi su dažnesniais nepageidaujama įvykiais, ypač pakartotinės revaskularizacijos poreikiu. Papildomos priemonės, tokios kaip frakcinis tėkmės rezervas (FFR) arba intravaskulinis ultragarsinis tyrimas (IVUS), leidžia pagerinti PKI rezultatą ir sumažinti nepageidaujamų įvykių riziką ateityje. FFR yra fiziologinis indeksas, naudojamas VA susiaurėjimo hemodinaminiam reikšmingumui ir funkciniam PKI rezultatui įvertinti. FFR vertės svyruoja nuo 0 iki 1, kai FFR vertė 1 nurodo normalią kraujotaką, o ≤ 0.80 nurodo hemodinamiškai reikšmingą pažeidimą. IVUS pritaikymas leidžia vizualizuoti kraujagyslės vidinį spindį – tiek prieš PKI, tiek po stento implantacijos. FFR ir IVUS panaudojimas atliekant PKI sumažina nepageidaujamų įvykių riziką lyginant su intervencijomis, atliktomis vien tik angiografijos kontrolėje, tačiau vis dar trūksta minėtų priemonių palyginamųjų tyrimų, ypač gydant ilgus VA pažeidimus.

Tyrimo tikslas. Įvertinti funkcinį PKI rezultatą ir nepageidaujamų įvykių dažnį gydant ilgus VA pažeidimus IVUS kontrolėje ir palyginti pasiektą rezultatą su intervencijomis, atliktomis FFR kontrolėje.

Metodika. Tyrimas atliktas Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikose. Tyrime dalyvavo 154 pacientai, kuriems FFR būdu nustatytas hemodinamiškai reikšmingas pažeidimas, kurio gydymui reikalingas ≥ 30 mm stentas. Pirmąją, prospektyvinę tyrimo dalį, sudarė 80 pacientų, kuriems PKI atlikta IVUS kontrolėje, įvertinant funkcinį PKI rezultatą FFR būdu iš kart po atliktos PKI ir praėjus 9–12 mėn. Antrąją tyrimo dalį sudarė IVUS optimizacijos pacientų grupės rezultatų palyginimas su FFR optimizacijos grupe („istorinė“ grupė, 74 pacientai), kuriems PKI optimizuota pasitelkiant FFR.

Rezultatai. Pacientų klinikinės charakteristikos ir bazinis FFR (0.65 [0.55–0.71]) tarp dviejų grupių reikšmingai nesiskyrė. IVUS grupės pacientams buvo stentuotas ilgesnis VA segmentas (63 mm) lyginant su FFR grupe (49 mm), $p = 0.001$. Optimalaus funkcinio PKI rezultato (FFR > 0.9) dažnis tarp dviejų grupių nesiskyrė, tačiau FFR grupėje dažniau buvo nustatoma liekamoji miokardo išemija (FFR ≤ 0.8), atitinkamai 12 % ir 0 %. Praėjus 9–12 mėn. nuo PKI FFR grupėje taip pat buvo dažniau nustatoma gydytos kraujagyslės sąlygota miokardo išemija, lyginant su IVUS grupe (atitinkamai 20 % ir 6 %, $p = 0.03$). Su gydyta kraujagysle susijusių nepageidaujamų įvykių (8.1 % ir 3.8 %) ir funkcinės gydytos kraujagyslės restenozės (15.1 % ir 7.6 %) dažniai per vienerių metų stebėjimo laikotarpį buvo dvigubai didesni FFR optimizacijos grupėje, tačiau skirtumai nepasiekė statistinio reikšmingumo.

Išvados. IVUS pritaikymas atliekant ilgų VA pažeidimų PKI buvo susijęs su rečiau nustatoma liekamąja miokardo išemija iškart po PKI ir atokiuoju laikotarpiu, lyginant su FFR optimizacijos grupe. Nepageidaujamų įvykių dažnis, taip pat, buvo mažesnis IVUS grupėje, tačiau šis skirtumas nepasiekė statistinio reikšmingumo.

Hepatitis C patikros programa Lietuvoje: pirmųjų programos metų rezultatai ir galimi infekcijos eliminavimo scenarijai

Eglė Čiupkevičienė¹, J. Petkevičienė¹, A. Voeller², H. Razavi², L. Kupčinskas³

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Sveikatos tyrimų institutas

²Ligų analizės centro fondas, Lafajetas, JAV

³Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Gastroenterologijos klinika

Įvadas. Hepatitis C patikros programa Lietuvoje pradėta 2022 m. gegužės mėnesį. Sveikatos apsaugos ministerija skyrė papildomą finansavimą šeimos gydytojams, atliekantiems antikūnų prieš hepatitis C virusą (anti-HCV) tyrimus gyventojams: 1) gimusiems 1945–1994 m. (vieną kartą per gyvenimą) ir 2) vartojantiems švirkščiamuosius narkotikus arba užsikrėtusiems ŽIV (kasmetinis anti-HCV tyrimas). Tokia iniciatyva yra pirmoji Vidurio ir Rytų Europoje. Šio tyrimo tikslas – įvertinti pirmųjų hepatitis C patikros programos metų rezultatus ir sumodeliuoti scenarijus, kaip pasiekti PSO iškeltą tikslą iki 2030 m. eliminuoti HCV.

Tiksai ir metodai. Vizitų pas šeimos gydytojus metu pacientai kviečiami dalyvauti HCV patikros programoje. Anti-HCV nustatyti atliekamas kraujo serumo tyrimas. Pacientai, kurių tyrimų rezultatai teigiami, nukreipiami pas gydytoją gastroenterologą arba infekcinių ligų gydytoją. HCV ribonukleino rūgšties (HCV RNR) tyrimas taikomas aktyviai infekcijai nustatyti. Jei tyrimas patvirtina aktyvią infekciją, gydytojas skiria gydymą tiesiogiai veikiančiais antivirusiniais vaistais (angl. *Direct Acting Antivirals* – DDA). Informacija apie patikrintus ir gydomus pacientus gauta iš Valstybinės ligonių kasos.

HCV eliminavimo progresui Lietuvoje įvertinti buvo taikomas Ligų analizės centro fondo (JAV) parengtas Markovo ligos progresavimo modelis, į kurį buvo įvesti pirmųjų patikros metų duomenys. Sukurti trys scenarijai: bazinis scenarijus – 2023 m. grįžimas prie situacijos, buvusios iki patikros programos, ir du scenarijai su skirtinga gydymo apimtimi.

Rezultatai. 2022 metų pradžioje Lietuvoje gyveno apie 1,8 mln. žmonių, gimusių 1945–1994 m. Per pirmuosius patikros metus anti-HCV iširti 784919 žmonių (44 proc. tikslinės populiacijos). Teigiami tyrimų rezultatai gauti 1,3 proc. žmonių. Anti-HCV dažniau nustatyti vyrams nei moterims, atitinkamai 1,6 proc. ir 1,0 proc. Patikrinta 6711 švirkščiamuosius narkotikus vartojusių ir ŽIV infekuotų žmonių, iš kurių 31 proc. nustatyti anti-HCV. Atlikus HCV RNR tyrimą, viremija nustatyta 58 proc. DAA buvo gydomas 2581 pacientas (37 proc. turinčių aktyvią infekciją).

Taikant Markovo ligos progresavimo modelį, sukurti trys scenarijai. Bazinis – gydant tiek pat pacientų kaip ir prieš patikrą, PSO tikslai nebus pasiekti. Antrasis – gydant 70 % užsikrėtusių pacientų, bus pasiekta dauguma, bet ne visi PSO tikslai. Trečiasis – iki 2030 m. gydant visus užsikrėtusius pacientus, PSO tikslai bus pasiekti, išgelbėjant 150 gyvybių ir užkertant kelią 90 naujų dekompen-suotos cirozės ir 120 kepenų ląstelių vėžio atvejų.

Išvada. Šeimos gydytojai aktyviai dalyvauja HCV patikros programoje, tačiau gydomų pacientų skaičius turi būti padidintas, norint pasiekti PSO iškeltus tikslus.

Paklitakselio praėjimo pro CNS ir PNS barjerus palyginimas tarp žiurkių patinų ir patelių po *Cremophor EL* / etanolyje ištirpinto, su albuminu surišto ir micelinio paklitakselio įvedimo į organizmą

Milda Girdenyte^{1,2}, Yang Hu^{1,3}, Aghavni Ginosyan¹, Margareta Hammarlund-Udenaes¹, Irena Loryan¹

¹Transliacinės farmakokinetikos/farmakodinamikos grupė, Farmacijos departamentas, Farmacijos fakultetas

²Farmacijos ir farmakologijos centras, Biomedicinos institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas

³ADME tyrimai, Vaistų paieškos mokslai, Boehringer Ingelheim RCV GmbH & Co KG, Viena, Austrija

Įvadas. Chemoterapijos indukuota periferinė neuropatija (CIPN) yra dažnai pacientams nustatoma nepageidaujama poveikis, siejamas su paklitakselio terapija. Klinikoje naudojamas paklitakselis gali būti ištirpintas *Cremophor EL* / ir etanolio mišinyje (CreEL-PTX), surištas su albuminu sudarant nanodaleles (nab-PTX) arba įkomponuotas į XR17 micelas (micellar-PTX). Meta-analizė ir klinikiniai tyrimai rodo, jog nab-PTX ir micellar-PTX dažniau asocijuojami su CIPN lyginant su CreEL-PTX. Tuo tarpu literatūroje pateikiami prieštaraujantys teiginiai dėl lyties įtakos CIPN atsiradimui.

Tiksai. Įvertinti paklitakselio praėjimą į CIPN-paveikiamus audinius centrinėje (CNS; smegenys, nugaros smegenys) ir periferinėje (PNS; sėdimasis nervas (SN), dorsalinis ganglijus (DRG)) nervų sistemose bei į skeleto raumenį (SM) nustatant pasiskirstymo apimtį per kraujo-audinių barjerus tarp žiurkių patinų ir patelių naudojant laisvo vaisto pasiskirstymo koeficientą, $K_{p,u,u,audinys}$.

Metodai. *In vivo* tyrimų metu buvo atlikta 4 val. 4 mg/kg CreEL-PTX (n = 8), 4 mg/kg nab-PTX (n = 7) arba 1 mg/kg micellar-PTX (n = 6) pastovaus greičio infuzija siekiant nustatyti bendrą paklitakselio pasiskirstymo apimtį, $K_{p,audinys}$. Eksperimentuose tirti *Sprague Dawley* žiurkių patiniai ir patelės (Lille Skensved, Danija). Po eksperimento surinkti plazmos ir audinių mėginiai analizuoti naudojant UPLC-MS/MS. *Combinatory Mapping Approach* su jungimosi su plazmos baltymais ir audinių pasisavinimo korekcija (Loryan, Sinha et al, PharmRes, 2014) taikytas apskaičiuojant $K_{p,u,u,audinys}$. Statistinė analizė atlikta naudojant GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad Software, San Diego). Duomenys pateikiami kaip vidurkis ± standartinis nuokrypis.

Rezultatai. Bendra paklitakselio plazmos koncentraciją eksperimento pabaigoje buvo 296.6 ± 89.56 ng/mL (M; patinas) ir 490.1 ± 50.6 ng/mL (F; patelė) CreEL-PTX, 93.4 ± 21.7 ng/mL (M) ir 75.5 ± 9.4 (F) nab-PTX ir 55.1 ± 15.0 ng/mL (M) ir 18.7 ± 7.1 ng/mL (F) micellar-PTX grupėse. Mažiausios $K_{p,audinys}$ ir $K_{p,u,u,audinys}$ reikšmės nustatytos CreEL-PTX patelių grupėje, tačiau jos statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo CreEL-PTX patinų grupės rezultatų. Daugiau negu vienas $K_{p,u,u,audinys}$ reikšmės nustatytos kraujo-SN ir -SM barjerų atžvilgiu, išskyrus SN CreEL-PTX grupės patelėse, $K_{p,u,u,SN}$ 1.1 (CreEL-PTX, M), 0.6 (CreEL-PTX, F), 1.2 (nab-PTX, M), 1.6 (nab-PTX, F), 1.7 (micellar-PTX, M) ir 1.75 (micellar-PTX, F).

Išvados. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp žiurkių patinų ir patelių atitinkamose grupėse nustatyta nebuvo. Tuo tarpu lyginant tarp paklitakselio preparatų statistiškai reikšmingai didesnės $K_{p,audinys}$ ir $K_{p,u,u,audinys}$ reikšmės nustatytos nab- ir micellar-PTX grupėse lyginant su CreEL-PTX. Remiantis atliktais tyrimais galima teigti, jog didesnė CIPN išsivystymo rizika gali būti sietina su naudojamais paklitakselio preparatais, kuomet pasiekama panaši laisvo paklitakselio koncentracija plazmoje nepriklausomai nuo lyties.

Valgomos vakcinės link? Baltymų ekspozavimo mielių ląstelių paviršiuje technologijos esminiai aspektai ir pirminiai sistemos testavimai įtvirtinant *Acinetobacter baumannii* Blp1 baltymo fragmentą**Arūnė Verbickaitė**

Vilniaus universitetas

Ar žinojote, jog net 20 % žmonijos populiacijos turi fobiją adatoms? Ar pagalvojote, kiek ligų ir endemijų galėtume išvengti besivystančiose, ir ne tik, šalyse, jei vakcinacija nereikalautų specialaus medicininio personalo? Galimas tokių iššūkių sprendimo būdas – valgomos vakcinės. Mielės *Saccharomyces cerevisiae*, kaip įrankis antigeno pateikimui, yra puikus kandidatas tokių vakcinų kūrimui: jos nepatogeniškos, plačiai taikomos maisto pramonėje, turi GRAS (angl. *Generally Recognized as Safe*) statusą, pagrindiniai ląstelės sienelės komponentai β-gliukanai pasižymi imuninę sistemą stimuliuojančiomis savybėmis, indukuojamas ne tik sisteminis, bet ir vietinis imuninis atsakas – visa tai padidina šių mielių panaudojimo vakcinų kūrimui potencialą.

Baltymų ekspozavimo ant mielių ląstelių paviršiaus technologijai tinka α-agliutininų sistema. α-agliutininai yra mielių poravimosi baltymai, įtvirtinti ląstelės sienelėje. Tokia sistema pirmą sykį išbandyta dar 1985 metais, tiesa, kitais tikslais, ir tuo atveju buvo panaudotas kito tipo poravimosi baltymas – α-agliutininas, su kuriuo susijungia α-agliutininas poravimosi metu. Tokio tipo sistemos turi didžiulį panaudojimo potencialą įvairiose srityse. Deja, Lietuvoje iki šiol ši sistema nebuvo išbandyta jokiais tikslais. Savo darbuose naudoju α-agliutininų sistemą. Ją sudaro du baltymai: Aga1 ir Aga2 baltymas. Baltymai endoplazminiame tinkle susijungia dviem disulfidiniais ryšiais, išnešami į ląstelės išorę ir įtvirtinami sienelėje. Aga1 baltymas yra koduojamas mielių *S. cerevisiae* genome. Aga2 baltymas yra koduojamas į ląstelę įvedamoje rekombinantinėje plazmidėje transformacijos metu. Prie AGA2 geno genų inžinerijos metodais priliejamas tikslinio baltymo genas. Šiame vektoriuje yra įvairūs žymenys padedantys identifikuoti tikslinio-sulietinio baltymo sintezę bei lokalizaciją. Sukūrus norimą rekombinantinę plazmidę ir ją transformavus mielių ląsteles, analizuojama, ar sintezė vyksta, kur lokalizuojasi tikslinis baltymas, kiek jo išnešama į ląstelės išorę ir ieškoma atsakymų į kitus kylančius klausimus. Teoriniais duomenimis baltymo ekspozavimo išorėje efektyvumas gali siekti iki 70-80 %.

Acinetobacter baumannii yra oportunistinis patogenas, kuris Lietuvoje lemia endeminę situaciją ligoninėse, o didžioji dalis bakterijos izoliatų yra atsparūs antibiotikams. PSO šią problemą iškėlė dar 2017 metais. Vakcinacija gali padėti susidoroti su iššūkiu. Kolegų ankstesnių tyrimų metu buvo nustatyta, jog bakterijos adhezinio baltymo Blp1 C galinis fragmentas yra ne tik imunogeniškas, bet ir konservatyvus tarp paplitusių atsparių izoliatų. Būtent šis Blp1 baltymo fragmentas pasirinktas išbandyti minėtos sistemos potencialą valgomos vakcinės kūrimui. Pirminiais eksperimentų duomenimis galiu teigti, jog tikslinis baltymas yra sintetinamas, ekspozuojamas mielių išorėje, o ekspozavimo efektyvumas siekia beveik 50 %.

Endometriumo vėžio ląstelių linijų kūrimas personalizuotai terapijai**Eglė Žalytė¹**, Aistė Avižaitė¹, Laura Marija Račytė¹, Evelina Šidlovskaitė², Margarita Montrimaitė³, Gediminas Januška³, Rūta Čiurlienė³¹Biochemijos ir molekulinės biologijos katedra, Biomokslų institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas, Vilnius, Lietuva²Valstybinis patologijos centras, Vilnius, Lietuva³Nacionalinis vėžio institutas, Vilnius, Lietuva

Endometriumo (gimdos kūno) vėžys yra šešta pagal populiarumą moterų onkologinė liga pasaulyje ir trečia Lietuvoje. Įdomu tai, kad Lietuva kartu su kaimyne Lenkija pirmąją Europoje pagal susirgimų skaičių. Paprastai endometriumo vėžiu serga vyresnio amžiaus moterys, rizikos faktoriai yra nutukimas, pakaitinė hormonų terapija ir kai kurios paveldimos ligos. Tačiau kodėl būtent Lietuvoje ir Lenkijoje nustatoma daugiausiai endometriumo vėžio atvejų visoje Europoje, nėra aišku. Populiariausi chemoterapiniai preparatai, naudojami endometriumo vėžiui gydyti, yra karboplatina ir paklitakselis, tačiau jų veiksmingumas metastazavusio vėžio atveju yra nedidelis, o 5-ųjų metų išgyvenamumas nustačius pažengusį endometriumo vėžį tėra 15–20 %. Todėl nuolatos ieškoma naujų, efektyvesnių vaistų ir jų kombinacijų.

Norint atrasti naujus taikinius priešvėžinei terapijai, reikia identifikuoti endometriumo vėžio ląstelių išgyvenimui svarbias molekules. Standartinė vėžio modelinė sistema *in vitro* yra ląstelių linijos – monosluoksniu ant plastiko augančios vėžinės ląstelės. Tačiau endometriumo vėžio atveju susiduriama su problema: dauguma komercinių endometriumo vėžio ląstelių linijų, pavyzdžiui, dažniausiai moksliniuose tyrimuose naudojamos Ishikawa, HEC-1-A ir HEC-1-B, yra išvestos iš Azijos regiono pacienčių navikų. Todėl norint nustatyti biologinius skirtumus, lemiančius Europos moterų polinkį sirgti endometriumo vėžiu, būtinos naujos ląstelių kultūros, kurios atspindi mūsų regiono genomo ypatumus.

Šiame tyrime pristatome naujas endometriumo vėžio ląstelių linijas, 2023-ais metais išvestas iš Lietuvos regiono endometriumo vėžio pacienčių navikų pooperacinės medžiagos. Naujai sukurtos linijos buvo charakterizuotos nustatant ląstelių dalijimosi greitį, vėžinių, epitelinių ir mezenchimalinių žymenų raišką, įvertinant kolonijų formavimo efektyvumą minkštame agare, ląstelių kariotipinį profilį bei jautrumą klinikoje endometriumo vėžiui gydyti naudojamiems vaistams.

Atėityje naujai išvestos ląstelių linijos galės būti panaudotos endometriumo vėžio funkciniam tyrimams bei personalizuotos terapijos optimizavimui.

Tyrimus finansavo Vilniaus universiteto Mokslo skatinimo fondas (projekto nr. MSF-JM-17/2022) ir Ateities biomedicinos fondas (projekto nr. (1.78) SU-442).

Inkstų mitochondrijų kardiolipinai: pokyčiai hipoksijos/reoksigenacijos metu

Arvydas Strazdas¹, Kristupas Klimkaitis², Rasa Baniėnė¹

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Neuromokslų institutas, Biochemijos laboratorija

²Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, Medicinos fakultetas

Kardiolipinai yra membraniniai fosfolipidai, pasižymintys išskirtine struktūra, lemiančią ypatingas funkcijas tiek mitochondrijose, tiek visoje ląstelėje. Šie fosfolipidai glaudžiai sąveikauja su mitochondrijų oksidacinės fosforilimo sistemos kompleksais ir palaiko jų optimalų aktyvumą. Taip pat kardiolipinai dalyvauja mitochondrijų dalijimosi, susilieimo, autofagijos ir net ląstelės apoptozės procesuose. Kardiolipino struktūroje yra keturios riebalų rūgštys, kurios gali būti įvairaus ilgio ir nesotumo laipsnio, todėl egzistuoja didelė kardiolipinų įvairovė. Paprastai jų struktūroje vyrauja polinesočiosios riebalų rūgštys, todėl oksidacinio streso metu kardiolipinai gali būti oksiduojami. Aktyvių deguonies junginių sintezė suintensyvėja hipoksijos/reoksigenacijos sąlygomis, ypač reperfuzijos metu. Tai kardiolipino oksidaciją, mitochondrijų ir ląstelės pažeidimą. Kardiolipino struktūriniai ir kiekybiniai hipoksijos/reoksigenacijos metu yra ištyrinėti širdyje, smegenyse, kepenyse, tačiau beveik nėra duomenų apie inkstų kardiolipinus ir jų kiekybinius ar struktūrinius pokyčius hipoksijos/reoksigenacijos metu.

Tyrimo tikslas – identifikuoti kardiolipinus žmogaus inkstų proksimalinių kanalėlių epitelinėse ląstelėse (RPTEC/TERT1) ir įvertinti kardiolipinų kiekybinius pokyčius po hipoksijos/reoksigenacijos. Tyrimo metu hipoksija buvo sukeliama ląstelių kultūras 24 val. laikant hipoksinėje kameroje, kurios atmosferos deguonies kiekis buvo 2 %, o reoksigenacija sukurta išimant ląsteles iš kameros, pakeičiant mitybinę terpę šviežia ir laikant įprastomis sąlygomis inkubatoriuje 24 val. Iš ląstelių buvo išskiriami lipidai modifikuotu Folch'o metodu panaudojant chloroformo-metanolio-vandens mišinį (tūrio santykiu 4:2:1). Ląstelių lipidų frakcija išanalizuota ultraefektyviosios skysčių chromatografijos-masių spektrometrijos metodu. Taip pat buvo vertinami kardiolipinų sintezės (kardiolipino sintazės) ir remodeliavimo (tafazino ir lizokardiolipino acil-transferazės (LCLAT1)) genų raiškos pokyčiai po hipoksijos/reoksigenacijos.

Išanalizavus RPTEC ląstelių kardiolipinus nustatyta, kad šiose ląstelėse vyrauja kardiolipinas, kurio sudėtyje yra linolo, oleino bei palmitoleino riebalų rūgštys (m/z 1426). Masių spektre išsiskyrė pagrindiniai masių klasteriai su dominuojančiomis masėmis m/z 1400, 1426, 1450, 1474, tačiau visų kardiolipinų struktūroje buvo aptinkama linolo riebalų rūgštis. Išanalizavus po keletą dominuojančių kardiolipinų iš pagrindinių masių klasterių nustatyta, kad hipoksija / reoksigenacija lemia reikšmingą kardiolipinų kiekio didėjimą, kuris buvo daugiau nei dvigubai didesnis lyginant su kontroline grupe. Tokie pokyčiai koreliuoja su reikšmingai padidėjusia kardiolipino sintazės ir LCLAT1 genų raiška reoksigenacijos metu.

Epigenetiniai biožymenys ankstyvai neinvazinei inkstų navikų diagnostikai ir stebėsenai

Raimonda Kubiliūtė^{1,2}, Algirdas Žalimas^{1,2}, Kristina Žukauskaitė^{1,2}, Rasa Sabaliauskaitė^{1,2}, Albertas Ulys¹, Sonata Jarmalaitė^{1,2}

¹Nacionalinis vėžio institutas, Vilnius, Lietuva

²Vilniaus universitetas, Gyvybės mokslų centras, Vilnius, Lietuva

Mažieji inkstų navikai (angl. *Small renal mass, SRM*) yra mažo skersmens (≤ 4 cm) ir ankstyvos stadijos (pT1a) neoplastiniai dariniai atsitiktinai aptinkami inksto ribose. Nepaisant lėto SRM augimo tempo ir žemos metastazavimo rizikos, tinkama ligos klinikinė kontrolė yra būtina. Aktyvus šių pacientų stebėjimas, atidedant chirurgines intervencijas, yra geriausia šių navikų valdymo strategija, tačiau tai reikalauja periodinių (kas 3 mėn.) radiologinių tyrimų atlikimo. Be to, nors ir nedidelė, egzistuoja šių navikų metastazavimo rizika. Šiuo metu klinikinėje praktikoje nėra jokių molekulinį ligos biožymenų, kurie leistų gydytojams urologams tiksliau prognozuoti SRM progresavimo riziką ir palengvintų savalaikį aktyvaus gydymo parinkimą. Šiam tikslui galėtų pasitarnauti pacientų šlapime aptinkami navikiniam audiniui specifiniai epigenetiniai pakitimai. Taigi šio darbo tikslas yra nustatyti ankstesnių tyrimų metu atrinktų metilintos DNR biožymenų patikimumą neinvaziniam inkstų mažųjų navikų aptikimui ir galimo ligos progresavimo prognozavimui.

Pasirinktų šešių genų (*TFAP2B*, *TAC1*, *PCDH8*, *ZNF677*, *FLRT2* ir *FBN2*) DNR metilinimo lygis buvo tiriamas kiekybiniu metilinimui jautrios PGR metodu. Į tyrimą įtraukti 165 serijiniai šlapimo mėginiai surinkti iš 39 pacientų, kuriems diagnozuoti inksto maži navikai. Mėginiai buvo surinkti naviko diagnozės dieną ir vėliau vykdam aktyvų pacientų stebėjimą kas tris-šešis mėnesius. Vidutinis pacientų stebėjimo laikotarpis – 20 mėnesių. Kontrolinę grupę sudarė 92 šlapimo mėginiai surinkti iš asimptomatinių savanorių žmonių.

Reikšmingai aukštesnis genų *TFAP2B*, *TAC1*, *PCDH8*, *ZNF677* ir *FLRT2* metilintos DNR lygis ir/ar dažnis nustatytas šlapimo mėginiuose, surinktuose iš SRM turinčių pacientų, lyginant su asimptomatine kontrole. Aukščiausia diagnostinė vertė (AUC = 0.74) nustatyta keturių genų (*ZNF677*, *PCDH8*, *TAC1* ir *FLRT2*) rinkiniui, kurio diagnostinis jautrumas siekė 92 %, o specifškumas – 52 %. Metilinto geno *PCDH8* lygis teigiamai koreliavo su SRM dydžiu diagnozės metu. Be to, genų *PCDH8* ir *TFAP2B* metilinimo lygis pasižymėjo teigiamomis sąsajomis su naviko augimo dinamika.

Apibendrinant, inkstų mažieji navikai reikšmingai prisideda prie šlapime aptinkamo metilintos DNR lygio tad tokie biožymenys galėtų būti panaudojami ypač ankstyvai ir neinvazinei SRM diagnostikai bei ligos eigos stebėsenai.

Su retomis paveldimomis ligomis siejamuose FAS ir DYNC1H1 genuose nustatytų splaisingo variantų funkcinė analizė fibroblastuose

Gunda Petraitytė, Eglė Preikšaitienė

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto
Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

FAS ir DYNC1H1 genuose nustatomi heterozigotiniai variantai lemia retus genetinius sutrikimus. DYNC1H1 geno, koduojančio dineino 1 sunkiąją grandinę 1, pokyčiai lemia neurologinius, psichomotorinės raidos (MIM#614228, MIM# 614563) ir neuroraumeninius (MIM# 158600) sutrikimus. FAS genas, koduojantis Fas ląstelės žūties receptorių, siejamas su autoimuniniu limfoproliferaciniu sindromu (ALPS, MIM# 601859). Šiuose genuose neretai nustatomi aminorūgščių keičiantys patogeniniai variantai. Aprašyti rėmelio poslinkį, priešlaikinės baigmės kodoną lemiantys ar splaisingo patogeniniai variantai FAS gene, tačiau DYNC1H1 gene baltymą trumpinantys variantai aprašyti tik dviem tiriamiesiems.

Šio tyrimo tikslas – patvirtinti literatūroje neaprašytų DYNC1H1 ir FAS genuose nustatytų splaisingo variantų patogeniškumą atliekant funkcinę analizę fibroblastuose.

Šiame darbe egzomo sekoskaita analizuota tiriamųjų DNR. *In silico* įvertinta FAS ir DYNC1H1 genuose nustatytų variantų įtaka splaisingui. Atlikta tiriamųjų kopijinės DNR mėginių Sanger sekoskaita siekiant patvirtinti jų įtaką iRNR struktūrai. DYNC1H1 ir kitų genų raiška nustatyta kiekybinės PGR metodu. FAS geno koduojamo receptoriaus funkcija analizuota atliekant eksperimentą su jam specifiniu ligandu bei antikūnu tiriamųjų, kontrolinių asmenų fibroblastuose. DYNC1H1 pokyčių įtaka ląstelės organelių lokalizacijai analizuota fluorescencine mikroskopija tiriamųjų, kontrolinių asmenų fibroblastuose. DYNC1H1 pokyčių įtaka Goldžio struktūrai atsikurti analizuota panaudojus nokodazolą. Genų raiškos slopinimas atliktas su siRNR.

Atlikus egzomo sekoskaitą, FAS gene nustatyta nedidelė iškrita, apimanti splaisingo vietą, ALPS požymių turinčiai tiriamajai ir splaisingo variantas DYNC1H1 gene asmeniui, tirtam dėl intelektinės negalios. Nuskaičius tiriamųjų kDNR sekas Sanger metodu, nustatyta, kad abu variantai lemia splaisingo sutrikimus: FAS geno iškrita lemia alternatyvios sukirpimo vietos susidarymą, o DYNC1H1 geno variantas lemia introno intarpą. Taikant ląstelinius metodus, nustatyti FAS geno koduojamo receptoriaus funkcijos sutrikimai ir jo įtaka ląstelės gyvybingumui naudojant su receptoriumi sąveikaujantį antikūną. Atlikus kPGR, nustatyti DYNC1H1 ir KIFC1 genų raiškos pokyčiai tiriamojo ląstelėse. Analizuojant DYNC1H1 funkciją, fluorescentine mikroskopija nustatyti Goldžio komplekso struktūros ir jos atsikūrimo laiko skirtumai po poveikio nokodazolu bei KIFC1 ir KIFC3 genų raiškos tildymo tiriamojai ir kontrolinių asmenų fibroblastuose.

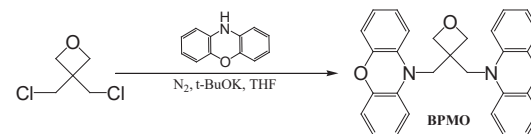
Taikant integracinę požiūrį į varianto analizę, bioinformaciniais ir molekuliniais tyrimais nustatyta DYNC1H1 ir FAS genų variantų įtaka sutrikusiam splaisingui. Tyrimais ląstelėse nustatyta pakitusi FAS baltymo funkcija, lemianti apoptozės sutrikimą, bei DYNC1H1 baltymo pokyčių įtaka Goldžio komplekso dinamikai. Šie pokyčiai pagrindžia variantų patogeniškumą ir pabrėžia tyrimų ląstelėse svarbą siekiant įrodyti variantų funkcinę reikšmę bei atskleisti lemiamą patogenezės mechanizmą.

Žvakės šviesą skleidžiantys organiniai šviestukai melatonino neslopintiems apšvietimo prietaisams

Dovydas Blaževičius, Mantas Kirstukas

Polimerų chemijos ir technologijos katedra, Kauno technologijos universitetas, Kaunas, Lietuva

Organiniai šviestukai (OLED) yra plačiai tyrinėjami dėl didelio jų potencialo kuriant ekonomiškus apšvietimo įrenginius [1, 2]. Geltonai fosforecuojantys emiteriai yra ypač svarbūs mėlynos spinduliuotės komponentės nuturintiems šviesos šaltiniams. Mėlynoji emisija yra atsakinga už akies tinklainės pažeidimus, melatonino slopinimą bei padidėjusią onkologinių susirgimų riziką [3, 4, 5]. Norint išgauti aukštą prietaiso efektyvumą, emisiniame sluoksnyje be emiterio privalu naudoti ir matricą [6]. Šio darbo metu buvo sukurta nauja medžiaga OLED prietaisų matricoms, kuri buvo susintetinta procedūros, pavaizduotos 1 paveiksle, metu.



1 pav. Medžiagos matricoms fenoksazino pagrindu sintezė.

Naujai susintetintoje medžiagoje matricoms 3,3-di(10-fenoksazinilmetil)oksetane (BPMO) dispersavus geltonai ir oranžiniai fosforescuojantys emiterius buvo sukurtas šviestukas, atkuriantis natūralią žvakės šviesą, kuris neturi mėlynosios emisijos komponentės. Pagamintas prietaisas demonstravo ypač žemą skleidžiamos šviesos temperatūrą (1690K), o jautrumo melatonino slopinimui vertė siekė vos 1,33 %, kuri yra atitinkamai 66 % ir 88 % mažesnė nei žvakės šviesos ir kaitrinės lemputės šviesos jautrumo melatonino slopinimui vertės. Prietaiso maksimalus energinis, srovės ir išorinis kvantinis efektyvumas siekė atitinkamai 23,1 lm/W, 22,4 cd/A ir 10,2 %. Tai yra žymiai geresnės charakteristikos, nei prietaisų su komercine matrica CBP.

Finansinė parama projektui TAPLLT4/12 buvo suteikta Lietuvos mokslo tarybos. Dėkojame Jwohuei Jou mokslininkų grupei už prietaisų suformavimą.

Literatūros sąrašas

1. A. Pazini, L. Maqueira, H.C. Avila, et al // Tetrahedron Letters, 2018, 59, 2994-2999.
2. D.M. Sun, Z.J. Ren, S.K. Yan // Journal of Materials Chemistry. C, 2018, 6, 4800-4806.
3. J. H. Jou, H. H. Yu, F. C. Tung, C. H. Chiang, Z. K. He, M. K. Wei // Journal of Materials Chemistry C, 2017, 5, 176-182.
4. S. W. Lockley, G. C. Brainard, C. A. Czeisler // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2003, 88, 4502-4505.
5. S. M. Pauley // Medical Hypotheses, 2004, 63, 588-596.
6. B.-Y. Ren, R.-D. Guo, D.-K. Zhong, et al. // Inorganic Chemistry, 2017, 56, 8397-8407.
7. C. Adachi, M.A. Baldo, M.E. Thompson, et al. // Journal of Applied Physics, 2001, 90, 5048-5051.

Monokloninių antikūnų prieš SARS-CoV-2 nukleokapsidės baltymą kūrimas ir apibūdinimas

Agnė Rimkutė, Martynas Simanavičius, Ieva Sapronaitytė, Indrė Dalgėdienė, Indrė Kučinskaitė-Kodžė, Aurelija Žvirblienė

Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Biotechnologijos institutas

Sunkaus ūminio kvėpavimo sindromo koronavirusas 2 (SARS-CoV-2), 2020 m. sukėlęs COVID-19 pandemiją bei užkrėtęs daugiau nei 600 milijonų žmonių visame pasaulyje, vis dar yra paplitęs. Nors sukurtos vakcinės, nukreiptos prieš SARS-CoV-2 spyglio baltymą, padėjo suvaldyti pandemiją ir apsaugojo nuo sunkių ligos atvejų, tačiau plintant naujiems viruso variantams, efektyvi SARS-CoV-2 diagnostika išlieka aktuali. SARS-CoV-2 nukleokapsidės (N) baltymas yra funkciškai svarbus viruso gyvavimo cikle – reguliuoja viruso replikaciją, transkripciją, dalyvauja virusinių dalelių surinkime. N baltymas dalyvauja ir ląstelės patologiniuose procesuose bei yra atsakingas už šeiminko imuninės sistemos atsaką. Ūminės infekcijos metu, šis baltymas yra sintetinamas anksčiausiai bei gausiausiai. Dėl didelio imunogeniškumo, net esant lengviems ar besimptomiams ligos atvejams, susidaro stiprus organizmo atsakas, todėl N baltymas yra svarbus COVID-19 diagnostikos žymuo. Taip pat, pasitelkiant aukšto afiniškumo ir specifiskumo monokloninius antikūnus (MAK) prieš SARS-CoV-2 N baltymą, yra kuriamas viruso diagnostinės sistemos. Šie MAK yra naudingi ir detaliems N baltymo antigeniškumo tyrimams, kurie yra ypatingai svarbūs kuriant imunodiagnostinius testus.

Tyrimo metu hibridomų technologijos metodu buvo sukurti ir išsamiai apibūdinti MAK prieš SARS-CoV-2 N baltymą bei įvertintas potencialus jų pritaikymas viruso diagnostikai. Dėl didelės SARS-CoV-2 N baltymo homologijos su kitais koronavirusų N baltymais, MAK kūrimui pasirinkti du taikiniai – *S. cerevisiae* susintetintas rekombinantinis pilno ilgio (rN) bei delecinis N baltymo variantas (rN₁₂₁₋₄₁₉) (baltymai susintetinti UAB „Baltymas“). Patikrinus imunizuotų BALB/c pelių kraujo serumo mėginius, patvirtintas antigenų imunogeniškumas. Darbo metu sukurta 10 skirtingų hibridinių ląstelių linijų, sekretuojančių aukšto afiniškumo IgG1 poklasio MAK: 2 klonai prieš rN ir 8 klonai prieš rN₁₂₁₋₄₁₉. Iš ląstelių augimo terpės MAK išgryninti afininės chromatografijos metodu, panaudojant sąveiką su baltymu A. MAK specifiskumas analizuotas imunofermentinės analizės (IFA) bei imunoblotingo metodais, taip pat nustatyta, kad 9 iš 10 sukurtų MAK klonų sąveikauja su rekombinantiniu SARS-CoV-2 Omicron (BA.5) varianto N baltymu. Netiesiogine imunofluorescencija patvirtinta, kad 9 MAK specifiskai atpažįsta natyvų SARS-CoV-2 pirmtako N baltymą infekuotose ląstelėse. *E. coli* susintetinta 19 persidengiančių N baltymo fragmentų, kurių pagalba indentifikuotos MAK sąveikos su N baltymu sritys. Nustatyta, kad 7 MAK atpažįsta funkciškai svarbius epitopus – 1G5, 16D9, 18A8 epitopai persidengia su RNR sąveikaujancia sritimi, MAK 1A6, 4G6, 6G11, 12B2 atpažįstamos sritys yra C-gale, kuris yra atsakingas už baltymo dimerizaciją. Remiantis rezultatais, atrinktos MAK poros dviepitopės IFA sistemos kūrimui ir optimizavimui. MAK pora 6G11 ir 12B2, pasižymi aukščiausiu detekciniu jautrumu ir potencialiai gali būti pritaikoma viruso diagnostikos tyrimuose.

MEDICINOS IR SVEIKATOS MOKSLŲ SEKCIJA Sveikatos mokslai

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto studentų infekuotumo *Helicobacter pylori* pokyčiai per 25 metus ir infekuotumo sąsaja su dispepsijos simptomais

P. Jonaitis¹, I. R. Jonaitytė², E. Čiupkevičienė³, J. Petkevičienė³, J. Kupčinskas¹, L. V. Jonaitis¹

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Gastroenterologijos klinika, Kaunas, Lietuva

²Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos fakultetas, Kaunas, Lietuva

³Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Visuomenės sveikatos fakultetas, Sveikatos tyrimų institutas, Kaunas, Lietuva

Įvadas. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) yra vienintelė bakterija priskiriama 1 klasės kancerogenams. Ši infekcija yra pagrindinė lėtinio gastrito, opaligės bei skrandžio vėžio priežastis. *H. pylori* infekcija dažniausiai užsikrečiama vaikystėje. *H. pylori* paplitimas pasaulyje išlieka pakankamai didelis, tačiau palaipsniui mažėja, ypač tarp jaunesnių žmonių. Duomenų apie *H. pylori* infekcijos paplitimą rytų Europoje yra nedaug. *H. pylori* infekcija taip pat siejama su tam tikrais virškinamojo trakto simptomais.

Tyrimo tikslas: nustatyti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) studentų infekuotumą *H. pylori* 2020 metais bei įvertinti infekuotumo pokyčius per 25 metus. Įvertinti *H. pylori* infekcijos sąsają su virškinamojo trakto simptomais.

Metodai. Mokslinis darbas pradėtas gavus LSMU Bioetikos centro leidimą nr. BEC-MF-164. 1995, 2012, 2016 ir 2020 metais tyrimui atsitiktinai atrinkti LSMU medicinos ir slaugos fakultetų studentai. *H. pylori* diagnostikai naudoti serologiniai tyrimai iš piršto kraujo – 1995 metais „Helisal“ testas, 2012, 2016 ir 2020 metais – SureScreen Diagnostics Ltd testas. 2016 ir 2020 metais virškinamojo trakto simptomų pasireiškimo dažniui ir intensyvumui įvertinti naudota visuotinai pripažinta 7 balų gastrointestinalinių simptomų skalė. Vertinti šie dispepsijos simptomai: diskomforto jausmas epigastriume, rėmuo, atpylimas rūgščiu turiniu, alkio skausmai, pykinimas, gurgėjimas, pilnumo jausmas skrandyje, raugėjimas, vidurių pūtimas, vidurių užkietėjimas, viduriavimas, staigus stiprus noras tuštintis, nepilno pasituštinimo pojūtis. Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant duomenų kaupimo ir analizės programą IBM SPSS Statistics 25.0. Įvairių parametų analizei naudoti Z, neparametrinis X² ir Mann-Whitney testai. Pasirinktas statistinio reikšmingumo lygmuo: p < 0,05.

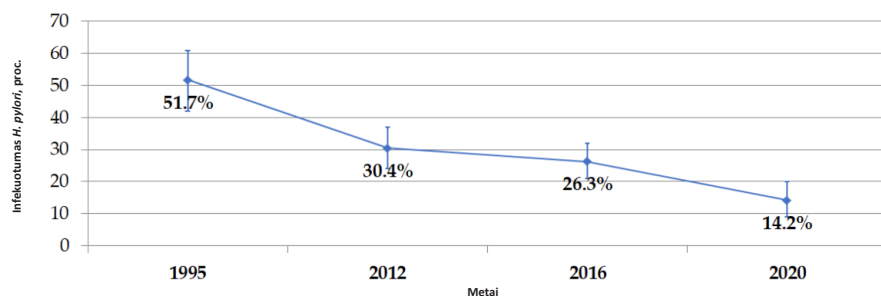
Rezultatai. Pagrindiniai 1995, 2012, 2016 ir 2020 metais ištirtų studentų demografiniai duomenys pateikti 1 lentelėje. *H. pylori* serologinis testas teigiamas: 1995 metais – 62 studentams (51,7 proc.), 2012 metais – 57 studentams (30,4 proc.), 2016 metais – 69 studentams (26,3 proc.), o 2020 metais – 21 studentui (14,2 proc.). Infekuotumo pokyčiai pateikiami 1 paveiksluke. Lyginant *H. pylori* infekcijos paplitimą 1995, 2012, 2016 ir 2020 metais stebimas akivaizdus infekuotumo mažėjimas. Nuo 1995 iki 2020 metų infekuotumas sumažėjo statistiškai reikšmingai (p < 0,001). Statistiškai reikšmingo infekuotumo sumažėjimo nenustatyta tik tarp 2012 ir 2016 metų. 2016 metais statistiškai reikšmingo virškinamojo trakto simptomų pasireiškimo dažnio ir intensyvumo skirtumo tarp serologiškai *H. pylori* infekuotų ir neinfekuotų studentų nenustatyta. 2020 metais raugėjimas ir viduriavimas statistiškai reikšmingai dažniau pasireiškė *H. pylori* neinfekuotiems studentams,

tačiau reikšmingo simptomų intensyvumo skirtumo tarp studentų grupių nenumatyta. Daugeliu atvejų simptomai buvo neintensyvūs ir netrikdantys gyvenimo kokybės.

Išvados. LSMU studentų infekuotumas *H. pylori* per 25 metus sumažėjo statistiškai reikšmingai. Pastovių virškinamojo trakto simptomų pasireiškimo dažnio ir intensyvumo skirtumų tarp serologiškai *H. pylori* infekuotų ir neinfekuotų grupių nenumatyta.

Rodiklis	Tyrimo metai			
	1995	2012	2016	2020
Ištirtų studentų skaičius, n	n = 120	n = 187	n = 262	n = 148
Moterys, n (proc.)	91 (76 proc.)	135 (72 proc.)	183 (70 proc.)	120 (81 proc.)
Vyrai, n (proc.)	29 (24 proc.)	52 (28 proc.)	78 (30 proc.)	28 (19 proc.)
Amžiaus vidurkis (standartinis nuokrypis)	21,3 (s = 1,0)	22,4 (s = 0,7)	20,4 (s = 0,7)	20,4 (s = 1,7)

1 lentelė. Pagrindiniai tyrimuose dalyvavusių studentų demografiniai duomenys.



1 pav. LSMU studentų infekuotumo *H. pylori* pokyčiai per 25 metus.

Hipoksijos ir imuninio atsako žymenų ekspresija vaikų centrinės nervų sistemos navikuose

Monika Kapitančukė^{1,2}, Donatas Petroška³, Agnė Petrošūtė⁴, Asta Lučiūnaitė⁴, Švitrigailė Grincevičienė⁴, Daumantas Matulis⁴, Saulius Ročka⁵, Jelena Rascon^{1,2}

¹Vilniaus Universiteto Medicinos fakultetas, Klinikinės medicinos institutas, Vaikų ligų klinika

²Vaikų onkohematologijos centras, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos

³Valstybinis patologijos centras, Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų filialas

⁴Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras

⁵Neurochirurgijos centras, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos

Ižanga. Centrinės nervų sistemos (CNS) navikai yra pirmoje vietoje pagal paplitimą tarp vaikų solidinių navikų, tačiau aukšto piktybiškumo navikų prognozė išlieka prasta^{1,2}. Siekiant pagerinti šių pacientų išgyvenamumą, skiriamas didelis dėmesys vėžio biologijos supratimui³.

Padidėjusi hipoksijos indukuojamo fermento karboanhidrazės IX (CAIX) raiška ir aktyvumas stebimas įvairiuose suaugusiųjų solidiniuose navikuose. Ji yra svarbi vėžinės mikroaplinkos palaišymui⁴. CAIX svarba aprašyta ir CNS navikų progresavimui⁵, tačiau išlieka neaiškūs mechanizmai kaip ji veikia organizmo imuninį atsaką vėžio ląstelėse, kokia yra koreliacija su kraujo imuninio atsako žymenimis ir kokią tai reikšmę turi naviko elgsenai. Žinoma, kad PD-1/PD-L1 imuninė ašis yra laikoma viena iš galimų taikinių gydymui, taip siekiant sustabdyti CNS navikų progresavimą⁶. Vieno taikinio terapija dažnai nėra pakankama, tad siekiame surasti ryšį tarp kitų onkologiniame procese dalyvaujančių hipoksijos ir imuninių ląstelių žymenų.

Metodika. Prospektyviai renkami vaikų CNS naviko medžiagos ir kraujo mėginiai. Planuojama išanalizuoti CAIX ekspresiją, CD8⁺ T limfocitus, PD-1/PD-L1 ašį T limfocituose ir makrofaguose, kitus su vėžiu asocijuotus makrofagų aktyvinimo žymenis (CD206, CCR2). Ištyrimui histologinėje naviko medžiagoje naudojami imunohistocheminiai (IHC) reagentai, kraujyje ir šviežioje naviko medžiagoje – tėkmės citometrijos imunofluorescencinė analizė. Tiriamų žymenų raiška vertinama procentine teigiamų ląstelių išraiška ir pagal nusidažymo intensyvumą.

Rezultatai. Įtraukti 5 pacientai. Amžiaus mediana 12 metų, 3 berniukai ir 2 mergaitės. Histologiškai nustatytos diagnozės – žemo piktybiškumo glioma (pagal PSO piktybiškumo laipsnį G1), aukšto piktybiškumo glioma (G4), meningioma (G1), žemo piktybiškumo glioneuronalinis navikas (G1) ir kraniofaringioma (G1). Pradinė IHC analizė parodė, kad CAIX raiškos nebuvo tik aukšto piktybiškumo gliomoje. Ištyrus tėkmės citometrijos metodu nustatyta, kad CAIX raiška šio naviko medžiagoje ir kraujyje taip pat nedidelė lyginant su kitų pacientų mėginiais. Stipriausia CAIX ekspresija IHC metodu buvo rasta žemo piktybiškumo gliomoje, kituose navikuose mažesnė. Trijuose histologiniuose mėginiuose įvertinta CD8⁺ raiška – mažiausias šių ląstelių kiekis stebimas aukšto piktybiškumo gliomoje. Rezultatas koreliuoja su radiniais kraujyje – mažiausia CD3⁺CD8⁺ populiacija nustatyta taip pat šio paciento kraujyje. Išanalizavus kitus imuninius žymenis bei jų sąsają su CAIX rasti netolygumai tarp skirtingų CNS navikų grupių: didžiausia PD-1/PDL-1 (ant CD45⁺) ir CD206 raiška (ant CD11b⁺) nustatyta kraniofaringiomoje, o atlikus IHC dažymą CAIX raiška kraniofaringiomoje buvo nedidelė.

Išvados. Pradiniai duomenys rodo, kad matoma nevienoda CAIX ir imuninių žymenų raiška skirtingose navikų grupėse ir kraujyje. Todėl tyrimas bus tęsiamas įtraukiant daugiau pacientų, siekiant įvertinti šių markerių koreliaciją bei jų sąsają su naviko piktybiškumu ir išieitimis.

Literatūros šaltiniai:

1. Subramanian S, Ahmad T. Childhood Brain Tumors. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535415/>
2. Helligsoe ASL, Kenborg L, Henriksen LT, Udipi A, Hasle H, Winther JF. Incidence and survival of childhood central nervous system tumors in Denmark, 1997-2019. *Cancer Med.* 2022 Jan;11(1):245-256. doi: 10.1002/cam4.4429. Epub 2021 Nov 19. PMID: 34800006; PMCID: PMC8704152.
3. Ardizzone A, Basilotta R, Filippone A, Crupi L, Lanza M, Lombardo SP, Colarossi C, Sciacca D, Cuzzocrea S, Esposito E, Campolo M. Recent Emerging Immunological Treatments for Primary Brain Tumors: Focus on Chemokine-Targeting Immunotherapies. *Cells.* 2023 Mar 8;12(6):841. doi: 10.3390/cells12060841. PMID: 36980182; PMCID: PMC10046911.
4. Tafreshi NK, Lloyd MC, Bui MM, Gillies RJ, Morse DL. Carbonic anhydrase IX as an imaging and therapeutic target for tumors and metastases. *Subcell Biochem.* 2014;75:221-54. doi: 10.1007/978-94-007-7359-2_12. PMID: 24146382; PMCID: PMC4282494.
5. Nordfors K, Haapasalo J, Haapasalo H, Parkkil S. Carbonic Anhydrase IX in Adult and Pediatric Brain Tumors [Internet]. Evolution of the Molecular Biology of Brain Tumors and the Therapeutic Implications. InTech; 2013. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/52358>
6. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res.* 2020 Mar 1;10(3):727-742. PMID: 32266087; PMCID: PMC7136921.

Eozinofiloetinių reikšmė skirtingų kraujo eozinofilų potipių aktyvumui sergant astma

Airidas Rimkūnas¹, Andrius Januškevičius¹, Eglė Vasylė¹, Jolita Palačionytė², Ieva Janulaitytė³, Kęstutis Malakauskas^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija,

²LSMU MA Pulmonologijos klinika

³LSMUL Kauno Klinikos Laboratorinės medicinos klinika

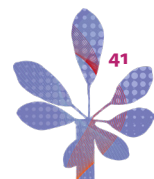
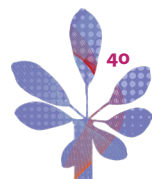
Išvados. Manoma, kad skirtingų kraujo eozinofilų potipių – rezidentinių eozinofilų (EOSrez) ir uždegiminių eozinofilų (EOSužd) – biologinės savybės skiriasi, todėl eozinofiloetiniai (IL-3, IL-5 ir GM-CSF) gali juos veikti nevienodai. Įvertinus eozinofiloetinių poveikį eozinofilų biologinėms savybėms yra labiau tikėtina, kad prieš citokinus nukreipti biologiniai vaistai turės kliniškai reikšmingą poveikį sergantiesiems eozinofiline astma ir pagerins ligos kontrolę.

Tikslas: įvertinti IL-3, IL-5 ir GM-CSF įtaką skirtingų kraujo eozinofilų potipių biologinėms savybėms sergant astma.

Metodai. Tyrime dalyvavo 13 alerginės astmos (AA) ir 12 sunkios eozinofilinės astmos (SEA) pacientų bei 9 sveiki asmenys (SA). Kraujo eozinofilai buvo išskirti naudojant centrifugavimą aukšto tankio Ficoll gradiente ir magnetinę separaciją, tuomet skirstomi potipiais naudojant magnetinę separaciją prieš CD62L. Eozinofilų chemotaksio įvertinimui naudoti šulinėliai su porėtomis membranomis. Reaktyvių deguonies formų (RDF) produkcija įvertinta tėkmės citometru. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių (BLRL) proliferacija įvertinta Alamaro mėlio metodu. Visiems AA pacientams buvo atliktas bronchų provokacinis mėginys (BPM) *D. pteronyssinus* alergenu ir eksperimentai pakartoti 24 val. po BPM.

Rezultatai. Sergančiųjų AA ir SEA eozinofilų potipių chemotaksis, RDF produkcija ir poveikis BLRL proliferacijai buvo didesnis ($p < 0,05$), lyginant su SA grupe. Be to, AA ir SEA EOSrez poveikis BLRL proliferacijai buvo intensyvesnis, lyginant su EOSužd. Tuo tarpu AA EOSužd RDF produkcija buvo didesnė ($p < 0,05$), lyginant su EOSrez. Sergančiųjų AA ir SEA EOSužd chemotaksis IL-3, IL-5 ir GM-CSF gradiente ir RDF produkcija buvo didesnė, lyginant su kontroliniais EOSužd, tuo tarpu EOSrez į eozinofiloetinius reagavo nevienodai. Eozinofilų potipių aktyvinimas IL-5 ir GM-CSF sustiprino jų poveikį BLRL proliferacijai ($p < 0,05$). Aktyvinimas eozinofiloetiniais skatino abiejų po BPM alergenu išskirtų eozinofilų potipių RDF produkciją, IL-5 ir GM-CSF aktyvinti EOSrez intensyviau didino BLRL proliferaciją, o IL-3 gradientas EOSužd chemotaksį ($p < 0,05$).

Išvados. Sergant astma kraujo eozinofilų potipiai pasižymi padidėjusiu chemotaksio, RDF produkcija bei proliferaciją skatinančiomis savybėmis. IL-3, IL-5 ir GM-CSF veikia uždegiminių eozinofilų chemotaksį ir RDF produkciją. IL-5 ir GM-CSF, bet ne IL-3, veikia sergančiųjų astma kraujo eozinofilų potipių proliferaciją skatinančias savybes. Alerginės astmos pacientų kraujo uždegiminių eozinofilų aktyvinimas eozinofiloetiniais bei alergenu ryškiau sustiprina jų chemotaksį ir RDF produkciją.



Obstrukcinės miego apnėjos charakterizavimas panaudojant rekurentinių diagramų analizę

Mantas Rinkevičius

Kauno technologijos universiteto Biomedicininės inžinerijos institutas

Įvadas. Obstrukcinė miego apnėja (OMA) – tai su miegu susijęs kvėpavimo sutrikimas, kuriam būdingi pasikartojantys kvėpavimo sustojimai, atsirandantys visiškai ar dalinai susiaurėjus viršutiniams kvėpavimo takams. Kaip auksinis standartas OMA stiprumo lygiui charakterizuoti naudojamas apnėjos ir hipopnėjos indeksas (AHI). Polisomnografinio nakties tyrimo metu gaunama AHI vertė parodo, kiek vidutiniškai kartų per valandą pacientas nustoja kvėpuoti (apnėjos epizodai) arba reikšmingai sumažėja oro srautas (hipopnėjos epizodai).

Manoma, kad OMA yra svarbus veiksnys, lemiantis prieširdžių virpėjimo (PV) išsivystymą kai kuriems miego apnėja sergantiems pacientams. Naujausi tyrimai rodo, kad PV rizika auga didėjant OMA stiprumo lygiui. Tačiau klinikinėje praktikoje plačiai naudojamas AHI įvertis neatsižvelgia į potencialiai žalingą poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai.

Tikslas – pasiūlyti ir ištirti naują rekurentinių diagramų savybėmis pagrįstą metodą OMA stiprumo lygiui charakterizuoti, atsižvelgiant į galimai susijusias širdies aritmijas.

Metodika. Siūlomas metodas remiasi kryžminių rekurentinių diagramų požymiais, skaičiuojamais tarp laiko eilučių – deguonies desaturacijos ir pulso sklidimo laiko OMA charakterizuoti; ir pulso sklidimo laiko ir širdies ritmo laiko intervalų PV aptikti. Tyrimams atlikti naudota MESA duomenų bazė, kurią sudaro 2055 subjektai.

Rezultatai. Įgyvendinti multinominės logistinės regresijos modeliai OMA ir PV apibūdinti parodė aukštus jautrumo ($76,24 \pm 5,57\%$, $80,91 \pm 4,24\%$), specifškumo ($91,49 \pm 2,96\%$, $85,60 \pm 1,91\%$), neigiamos prognostinės vertės ($92,62 \pm 2,30\%$, $93,05 \pm 1,99\%$), ROC kreivės ploto ($93,66 \pm 1,76\%$, $89,69 \pm 2,25\%$) ir tikslumo ($87,84 \pm 2,03\%$, $84,43 \pm 2,11\%$) rodiklius sunkiai miego apnėjos stadijai ir aritmijoms nustatyti, atitinkamai. Tuo tarpu mažesnė dviejų regresijos modelių kombinuoto kryžminės rekurencijos indekso vertė buvo statistiškai reikšmingai susijusi su didesniu OMA stiprumo lygiu (efekto dydis: $r_{rb} = 0,81, 0,75, 0,52$, kai $p < 0,01$) ir PV buvimu tarp apnėjos pacientų ($r_{rb} = 0,14, 0,33, 0,41$, kai $p < 0,01$). Be to, siūlomas indeksas parodė reikšmingai didesnę efekto dydį nei AHI diferencijuojant širdies ritmo sutrikimų grupes.

Išvados. Siūlomas rekurentinių diagramų savybių analize paremtas metodas gali būti naudojamas kaip alternatyva esamiems metodams ar papildoma priemonė miego apnėjos būklei diagnozuoti klinikinėje praktikoje.

Žarnyno mikrobiotos transplantacija geriamomis kapsulėmis pasikartojančios *C. Difficile* infekcijos gydymui: efektyvumo ir saugumo rezultatai

Tadas Urbonas, Vytautas Kiudelis, Jurgita Skiecevičienė, Justina Veličkienė, Juozas Kupčinskas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Įžanga. Žarnyno mikrobiotos transplantacija (ŽMT) yra naujas ir efektyvus metodas pasikartojančios *C. Difficile* infekcijos gydymui. Pirmieji infekcijos epizodai gydomi metronidazoliu arba vankomicinu, tačiau pasikartojančią ar gydymui atsparią infekciją rekomenduojama gydyti atliekant žarnyno mikrobiotos transplantaciją ir taip atkuriant normalų žarnyno bakterijų balansą. Anksčiau publikuoti rezultatai parodė puikius rezultatus ŽMT atliekant per enterinės mitybos zoną, tačiau reikalingi mažiau invazyvūs, patogesni ŽMT atlikimo metodai. Šiame darbe apžvelgiami efektyvumo ir saugumo rezultatai žarnyno mikrobiotos transplantaciją atliekant geriamosiomis šaldytomis kapsulėmis.

Metodai. Į šį tyrimą buvo įtraukta 30 pacientų, kuriems 2018-2021 metais dėl pasikartojančios *C. Difficile* infekcijos buvo atlikta žarnyno mikrobiotos transplantacija. Visiems pacientams buvo skiriama 50 geriamųjų kapsulių su šaldyta medžiaga. Prieš ŽMT visiems pacientams buvo skiriamas mažiausiai 5 dienų trukmės gydymas geriamu vankomicinu 500 mg 4 kartus, skiriami protonų siurblio inhibitoriai prieš ir procedūros dieną. Po žarnyno mikrobiotos transplantacijos pacientų būklė buvo sekama bent 6 mėnesius. Renkami ir analizuojami duomenys apie pasikartojančią *C. Difficile* infekciją, ankstyvuosius ir vėlyvuosius sunkius šalutinius reiškinius, naujai nustatytas diagnozes.

Rezultatai. 30 pacientų (amžiaus mediana 71 metai) žarnyno mikrobiotos transplantacija sėkmingai atlikta geriamosiomis šaldytomis kapsulėmis. 22 pacientams klinikinė remisija pasiekta po pirmos procedūros, todėl pirminis gydymo efektyvumas siekia 73,3%. Likusiems 8 pacientams per 8 savaites po atliktos žarnyno mikrobiotos transplantacijos pakartotinai pasireiškė *C. Difficile* infekcijos požymiai – atsinaujino viduriavimas. Šiems pacientams skirtas gydymas vankomicinu, pakartotinai atlikta ŽMT. Aktyvaus pacientų sekimo laikotarpiu sunkių šalutinių reiškinių, naujai nustatytų infekcinių, onkologinių, autoimuninių ligų ar mirčių susijusių su ŽMT nestebėta.

Išvados. Žarnyno mikrobiotos transplantacija geriamosiomis šaldytomis kapsulėmis yra saugus, mažiau invazyvus *C. Difficile* sukkelto kolito gydymo metodas su gerais efektyvumo rezultatais.

Išmatų transplantacija, jos pritaikymas terapiniais tikslais vaikų populiacijoje. Esama praktika pasaulyje ir patirtis Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikose

Dominykas Varnas

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vaikų ligų klinika

Išmatų transplantacija (IšTx), taip pat žinoma kaip išmatų mikrobiotos transplantacija (*fecal microbiota transplantation* – FMT), yra sveiko donoro išmatų įvedimas į recipiento virškinamąjį traktą siekiant naudoti sveikatai.

Žmogaus virškinimo trakte gyvena sudėtinga mikroorganizmų ekosistema, bendrai vadinama žarnyno mikrobiota, kuri atlieka itin svarbią funkciją virškinant ir pasisavinant maisto medžiagas, reguliuojant imuninį atsaką ir apsaugant žarnyną nuo patogenų. Taip pat mikrobiota atlieka kitas svarbias ir dar iki galo neištirtas funkcijas. Pastaruoju metu didelį susidomėjimą kelia smegenų-žarnyno ašis ir jos potencialus vaidmuo neuropsichiatrinė ligų kontekste.

Žarnyno mikrobiotos įvairovė paprastai yra reikšmingai mažesnė tarp pacientų, sergančių įvairiomis ligomis, todėl manoma, kad šios procedūros nauda sveikatai yra susijusi su žarnyno mikrobiotos sudėties pokyčiais. Šiuo metu vienintelė IšTx indikacija yra *Clostridium difficile* infekcijos, sukeliančios žarnyno uždegimą, gydymas, tačiau esamas didelis susidomėjimas jos terapiniu potencialu gydant kitus sutrikimus, tokius kaip uždegiminės žarnyno ligos, nutukimas, funkciniai virškinimo trakto sutrikimai, autizmo spektro sutrikimai (ASS) ir kiti.

Nuo 2017 m. Vilniaus universiteto Vaikų ligoninėje kolonoskopijos metu atlikome 80 išmatų transplantacijų 49 pacientams (37 berniukams ir 12 mergaičių). Iš 49 pacientų 39 turėjo ASS, 3 dėl pasikartojančio *C. difficile* sukkelto kolito, 1 hepatinė encefalopatija ir 1 pacientas su Krono ligos paūmėjimu. Prieš IšTx procedūrą pacientai buvo ruošiami 1,5–3 l polietilenglikolio 4000 (Fortrans) arba Picoprep tirpalais pagal preparato instrukcijas. Donorų išmatos buvo surenkamos 24 valandas iki procedūros. Išmatos buvo ruošiamos sumaišant su 250 ml 0,9 % NaCl ir filtruojant. Paruoštos išmatos kolonoskopijos metu buvo suleidžiamos į akląją žarną. Kai kuriems pacientams prieš arba po procedūros buvo skirta viena loperamido dozė. Visos procedūros buvo atliekamos taikant bendrąją nejautrą, naudojant sevofluraną, tiekiamą su kauke. IšTx vidutiniškai truko nuo 10 iki 20 minučių. Anestezijos ar kolonoskopijos metu komplikacijų nebuvo. Sunkių nepageidaujamų IšTx reiškinių nebuvo, o lengvi savaime praeinantys nepageidaujami reiškiniai (viduriavimas, diskomfortas pilve) buvo užfiksuoti ~13 % pacientų. Bendras tėvų pritarimas procedūrai ir pasitenkinimas ja buvo didelis.

Eozinofilų potipių miRNR raiškos pokyčiai ir poveikis tiksliniams genams sergant astma

Eglė Vasylė¹, Andrius Januškevičius¹, Airidas Rimkūnas¹, Jolita Palačionytė², Greta Šeškaitė¹, Kęstutis Malakauskas²

¹Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija

²Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Pulmonologijos klinika

Įvadas. Mikro-ribonukleorūgštis (miRNR) yra nekoduojanti, genų raišką po-transkripciniu lygiu reguliuojanti RNR, kurios raiška eozinofluose kinta sergant alergine astma (AA). Kraujo eozinofilų potipiai – plaučių rezidentiniai eozinofilai (EOS_{rez}) ir uždegiminiai eozinofilai (EOS_{užd}) – skiriasi savo biologinėmis savybėmis, kurios gali būti tiesiogiai veikiamos per genų reguliaciją potipiams specifinėmis miRNR. Nepaisant to, iki šiol nėra jokių duomenų apie eozinofilų potipiams specifines miRNR ir jų reguliuojamus genus, todėl eozinofilų potipiams specifinių miRNR analizė galėtų prisidėti prie geresnio eozinofilų biologinių savybių skirtumo supratimo.

Tikslas: nustatyti miR-146b-5p, miR-185-5p, miR-21-5p tikslinių genų taikinių (PRG2, CYSTLR1, RANTES, IL-1β) raiškos pokyčius sergančiųjų alergine astma EOS_{rez} ir EOS_{užd}.

Metodai: tyrime dalyvavo 12 naujai diagnozuotų AA pacientų ir 16 sveikų asmenų. Eozinofilai iš periferinio kraujo buvo išskirti centrifugavimo aukšto tankio gradientu ir magnetinio atskyrimo būdu, o jų potipiai atskirti naudojant magnetinę žymę žymėtus antikūnus prieš adhezijos molekulę CD62L. miRNR ir jų tikslinių genų taikinių raiška eozinofluose įvertinta atliekant kiekybinę atvirkštinės transkriptazės polimerazės grandininę reakciją.

Rezultatai. AA grupėje EOS_{užd} buvo nustatytas miR-146b-5p raiškos padidėjimas ir jos tikslinio geno RANTES raiškos sumažėjimas, palyginus su sveikų asmenų EOS_{užd}, p < 0,05. Be to, sergant astma miR-185-5p raiška buvo padidėjusi abiejuose eozinofilų potipiuose, palyginus su sveikais asmenimis, bei sumažėjusi šios miRNR tikslinio geno CYSTLR1 raiška, tačiau kito tikslinio geno – PRG2 raiška sumažėjo tik EOS_{rez}, p < 0,05. Taip pat nustatyta, kad AA grupėje EOS_{užd} miR-21-5p raiška buvo sumažėjusi, palyginus su EOS_{užd} sveikų asmenų grupėje, p < 0,05, tačiau šios miRNR tikslinio geno IL-1β raiška išliko nepakitusi. Dar daugiau, palyginus AA grupės EOS_{užd} ir EOS_{rez} tarpusavyje išaiškėjo, kad IL-1β raiška buvo padidėjusi EOS_{užd}, p < 0,05.

Išvados. Tyrimo metu nustatyta, kad sergant AA eozinofilų potipių miRNR raiškos pokyčiai gali atsispindėti šių miRNR tikslinių genų reguliavime ir atskleisti eozinofilų potipių biologinių savybių skirtumus.

Lietuvoje ir Lenkijoje paplitusios daugeliui vaistų atsparios *Mycobacterium tuberculosis* nustatymas fenotipiniais ir molekuliniais metodais

Laima Vasiliauskaitė^{1,2,3}, Zofia Bakula^{2,4}, Edita Vasiliauskienė^{1,2,3}, Daiva Bakonytė², Przemysław Decewicz⁵, Mikołaj Dziurzyński⁶, Małgorzata Proboszcz⁷, Edita Valerija Davidavičienė⁸, Birutė Nakčerienė⁸, Rafał Krenke⁷, Tomas Kačergius¹, Petras Stakėnas², Tomasz Jagielski⁴

¹Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra, Biomedicinos mokslų institutas, Medicinos fakultetas, Vilniaus universitetas

²Imunologijos ir ląstelės biologijos skyrius, Biotechnologijos institutas, Gyvybės mokslų centras, Vilniaus universitetas

³Laboratorinės medicinos centras, Infekcinių ligų ir tuberkuliozės laboratorija, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos

⁴Department of Medical Microbiology, Institute of Microbiology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Poland

⁵Department of Environmental Microbiology and Biotechnology, Institute of Microbiology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Poland

⁶Department of Biology (DBIO), University of Florence, Italy

⁷Department of Internal Medicine, Pulmonology, and Allergology, Warsaw Medical University, Warsaw, Poland

⁸Tuberkuliozės valstybės informacinės skyrius, Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos

Išvadas. Tikslus ir greitas atsparumo rifampicinui (RIF) ir izoniazidui (INH) nustatymas yra esminis kriterijus parenkant optimalų ir savalaikį gydymą daugeliui vaistų atsparia tuberkulioze (DVA-TB) sergantiems pacientams. Šios studijos tikslas – palyginti rutiniškai naudojamus fenotipinius jautrumo vaistams tyrimus (fJVT) su genotipiniais jautrumo vaistams tyrimais (gJVT) nustatant atsparumą RIF ir INH, taip pat įvertinti kokią įtaką minimaliai slopinamajai koncentracijai (MSK) turi skirtingos su atsparumu vaistams susijusios mutacijos identifikuotos atliekant sukėlėjo viso genomo sekoskaitą (VGS).

Metodai. Tyrimai atlikti iš 185 *M. tuberculosis* izoliatų (124 DVA-TB; 61 vaistams jautrios TB), išskirtų iš Lietuvos (n = 122) ir Lenkijos (n = 63) pacientų ėminių 2018–2021 m. JVT atlikti BACTEC MGIT 960 sistemoje ir Levenšteino-Jenseno (LJ) mitybinėje terpėje, o MSK nustatyta komercinėse MYCOTBI plokštelėse. Atvirkštinė PGR produktų hibridizacija pagrįstas metodas (angl. *line probe assay* (LPA)) pasitelktas greitai nustatyti sukėlėjo atsparumą vaistams. VGS atlikta Illumina NovaSeq 6000 sekvenatoriumi, o duomenys analizuoti naudojant bioinformatinę tékmę ir viešai prieinamą programinę įrangą (*Mykrobe*, *TB Profiler*).

Rezultatai. Fenotipinių JVT (BACTEC MGIT 9 / LJ) rezultatų sutapimas su LPA buvo aukštesnis nei su VGS rezultatais (98,9 % [RIF]; 97,8 % [INH] versus 97,3 % [RIF]; 97,3 % [INH]). Genotipiškai vaistams jautrių izoliatų MSK intervalai buvo tarp $\leq 0,12$ – $0,5$ $\mu\text{g/ml}$ RIF ir $\leq 0,03$ – $0,06$ $\mu\text{g/ml}$ INH. Dažniausia su atsparumu RIF susijusi mutacija buvo *rpoB* S450L (79,8 %), o dauguma šių mutantų pasižymėjo aukščiausia MSK verte (>16 $\mu\text{g/ml}$). Su atsparumu INH susijusias mutacijas (*katG* S315T (85,3 %), *katG* S315T + *inhA* C-15T (12,1 %), *katG* S315T + *inhA* T-8A (0,8 %) turinčių izoliatų MSK buvo $0,12$ – $>4,0$ $\mu\text{g/ml}$ intervale. Identifikuotas tik vienas *inhA* C-15T mutantas, kurio MSK vertė buvo 1 $\mu\text{g/ml}$.

Išvados. Diskordantiškų fJVT ir gJVT rezultatų dalis sudarė 3,8 %, ir tik dalį jų buvo galima paaiškinti naudotų metodų limitais. Likusių diskordantiškų rezultatų priežastys, tikėtina, buvo susijusios su padermių heterorezistentiškumu, mišriomis infekcijomis ar techniniais metodų trūkumais.

Finansavimas. Tyrimus finansavo Lietuvos mokslo taryba (S-LL-18-4) ir Nacionalinis Lenkijos mokslo centras (2017/27/L/NZ6/03279) pagal programą DAINA.

