



Pulmonologija ir alergologija

INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL OJS
OPEN ACCESS JOURNAL SYSTEMS

Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos leidinys



Nuotraukos autorius Andrius Aleksandravičius

PIA

2021 TOMAS 5 Nr. 1

ISSN 2538-7324

Geriamieji gliukokortikoidai astmai gydyti. Metas pokyčiams

Sunki astma ir COVID-19

Priešvėžinės vakcinos: praeitis, dabartis ir ateitis

Epigenetic mechanisms of asthma pathogenesis

„Pulmonology and Allergology“ is the official peer-reviewed scientific journal of Lithuanian Society of Pulmonology and Allergy, indexed in Index Copernicus International Journals Master List (ICV 58.20 for 2018)

Leidėjas

© Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugija

Vyriausiasis redaktorius

Kęstutis Malakauskas, dr. prof.

Redaktorė

Virginija Kalinauskaitė-Žukauskė, dr.

Redakcinė kolegija:

Alan Altraja, dr. prof.
Alfredas Bagdonas, dr. doc.
Ieva Bajoriūnienė, dr.
Kristina Biekšienė, dr. doc.
Reinoud Gosens, dr. prof.
Alvils Krams, dr. asoc. prof.
Palmira Leišytė, dr. doc.
Kęstutis Malakauskas, dr. prof.
Laura Malinauskienė, dr. prof.
Skaidrius Miliauskas, dr. prof.
Valdonė Misevičienė, dr. doc.
Iveta Skurvydienė, dr.
Brigita Šitkauskienė, dr. prof.
Laima Vaidelienė, dr. prof.
Arvydas Valavičius
Marius Žemaitis, dr. prof.

Redakcija

UAB „Vita Litera“
Savanorių pr. 137, LT-44146 Kaunas
Tel. 8 640 17599
El. paštas: zurnalas@bpg.lt
www.vitaelitera.lt

Tiražas – 500 egz.

Perspausdinti, platinti leidinį ar jo dalis bet kurioje formoje galima tik gavus raštišką leidėjo sutikimą

Žurnalas indeksuojamas Index Copernicus International žurnalų pagrindiniame sąrašė (2018 m. žurnalo vertė 58,20)

Aktualijos

- 4 COVID-19 pandemija – iššūkių metas
- 5 COVID-19 – liga, pakeitusi visų mūsų gyvenimą
- 7 Išleista pirmoji mokomoji knyga „Plaučių kraujagyslių ligos“
- 8 Pradėtas vykdyti naujas Lietuvos mokslo tarybos finansuojamas mokslininkų grupių projektas „Kraujo eozinofilų potipių specifinės miRNR kaip biožymenys ir gydymo taikiniai sergant astma“
- 9 Išleista informacinė knygelė pacientams apie plaučių vėžį
- 10 Dėmesys astmai ir ja sergantiesiems

Pulmonologija ir alergologija

- 11 Geriamieji gliukokortikoidai astmai gydyti. Metas pokyčiams
- 16 Sunki astma ir COVID-19
- 23 SARS-CoV-2 virusas: infekcijos ir vakcinų sukeltas imuninis atsakas
- 28 Deguonies terapija per didelės tėkmės nosines kaniules esant COVID-19 sukeltam plaučių pažeidimui. Klinikinis atvejis
- 31 Priešvėžinės vakcinos: praeitis, dabartis ir ateitis
- 35 Daugiau nei dilgėlinė: Šnicler sindromas

Disertacijos

- 41 Viability and effect of eosinophils on proliferation of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts in asthma

Moksliniai darbai ir apžvalgos

- 53 Epigenetic mechanisms of asthma pathogenesis
- 62 2019 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikose tirtų pacientų, kuriems pirmą kartą diagnozuota obstrukcinė miego apnėja, klinikinių, antropometrinių ir polisomnografijos duomenų analizė
- 68 Pacientų, sergančių nedidelės rizikos plaučių embolija, dešiniojo skilvelio dydžio ir funkcijos pokyčių bei biožymenų vertinimas
- 73 Akies paviršiaus būklės vertinimas sergantiesiems obstrukcine miego apnėja
- 78 Mokslinės tezės

Farmakoterapija

- 86 Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio imunoterapija
- 94 Trigubos terapijos, skirtos gydyti sergančiuosius lėtine obstrukcine plaučių liga, itin smulkių vaisto dalelių depozicijos plaučiuose tyrimas

Informacija

- 101 Reikalavimai autoriams
- 103 Requirements for authors

COVID-19 pandemija – iššūkių metas

COVID-19 pandemijos laikotarpis iš kiekvieno mūsų pareikalavo labai daug. Privertė keisti tai, kas įprasta, išmokti, kas dar taip neseniai atrodė sunkiai įmanoma arba nebūtina. Teko skubiai rasti sprendimus pradėtiems darbams tęsti, naujoms idėjoms įgyvendinti ir bendradarbiavimui užtikrinti. Smagu, kad šiomis sudėtingomis sąlygomis Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijai (LPAD) pavyko suorganizuoti dvi konferencijas aktualiomis temomis. Kovo 26 d. nuotoliniu būdu įvyko konferencija „Plaučių vėžio imunoterapija 2021“, skirta šiai naujai plaučių vėžio gydymo kryptčiai. Konferencijoje savo žiniomis ir patirtimi dalijosi prof. E. Juozaitytė, prof. S. Cicėnas, prof. E. Danila, prof. M. Žemaitis, prof. S. Miliauskas ir kiti lektoriai.

2021 m. balandžio 23 d. įvyko jau ketvirtoji kasmetė „Sunkios astmos konfe-

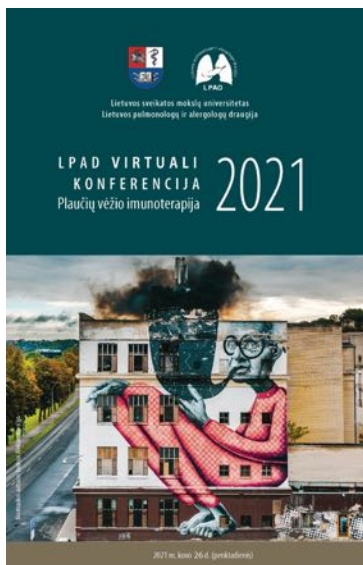


„Sunkios astmos konferencija 2021“ akimirkos
Prof. P. Howarth (Sautamptono universitetas,
Jungtinė Karalystė)

rencija 2021“. Renginys buvo hibridinis, gyvai dalyvaujant lektoriams. Pranešimus skaitė sunkios astmos srityje dirbantys gydytojai specialistai, patirtimi dalijosi ir žymus prof. Peter Howarth iš Sautamptono universiteto (Jungtinė Karalystė). Pirmą kartą organizuota ir specialioji sesija apie biologinių vaistų leidimo subtilybes bei galimas nepageidaujamas reakcijas, kuri buvo skirta bendrosios praktikos slaugytojams. Šios sesijos metu savo patirtimi pasidalijo Kauno klinikų Pulmonologijos klinikos bendrosios praktikos slaugytoja I. Jermalavičienė.

Birželio 10 d. planuojama kasmetė LPAD konferencija „Pulmonologija ir alergologija 2021“, kurioje, tikiuosi, daugeliui pavyks susitikti gyvai ir ne tik paklausti įdomių pranešimų, bet ir betarpiškai pabendrauti. Iki pasimatymo!

Vyr. redaktorius
prof. Kęstutis Malakauskas



COVID-19 – liga, pakeitusi visų mūsų gyvenimą

NERINGA VAGULIENĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

Koronaviruso liga 2019 (COVID-19) yra ūminis virusinis susirgimas, sukeltas SARS-CoV-2 viruso. Ji gali pasireikšti besimptomė, lengva, vidutine, sunkia arba kritiškai sunkia ligos formomis. Dažniausiai, sergant lengva ir vidutinio sunkumo COVID-19 forma, gali būti tokie simptomai: karščiavimas, bendras silpnumas, raumenų, gerklės, galvos skausmai, sloga, uoslės ir skonio praradimas, kosulys. Šios ligos formos gydomos ambulatoriškai. Sunkesniais atvejais, kai sukliamas plaučių pažeidimas su kvėpavimo nepakankamumu, reikalingas stacionarinis gydymas, svarbus vaidmuo tenka ir gydytojui infektologui, ir gydytojui pulmonologui. Įprastai sunki ligos forma išsivysto po 7–12 dienų nuo simptomų pradžios. Be to, reikėtų paminėti, kad net 10 proc. sergančiųjų sunkia COVID-19 forma nustatoma antrinė bakterinė pneumonija, kai reikalingas ir antibakterinis gydymas.

2020 m. lapkričio mėn. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikose (toliau – Kauno klinikos) pradėjo veikti COVID-19 Antrasis skyrius, kuriame gydomi pacientai, sergantys sunkia COVID-19 forma ir sudėtingomis gretutinėmis ligomis. Tai terapinio, neurologijos arba chirurgijos profilio pacientai, kurių gydymui reikalingos tretinio lygio stacionarinės gydymo paslaugos. Skyriaus vadove paskirta gydytoja pulmonologė dr. Neringa Vagulienė.

Pradėjus dirbti Kauno klinikų COVID-19 Antrajame skyriuje, prasidėjus antrajai infekcijos bangai, apie SARS-CoV-2 virusą jau žinojome daugiau, tačiau darbo patirtis buvo gan nauja. Virusinių pneumonijų, pavyzdžiui, sukeltų gripo, nors ir retai, bet pasitaikydavo ir anksčiau, tuo tarpu SARS-CoV-2 viruso sukeltos plaučių pažeidimo eiga ir komplikacijos yra žymiai grėsmingesnės nei gripo. COVID-19 labai heterogeniška liga ir neretai šios ligos eigos prognozuoti negalima, paciento būklė gali

keistis greitai ir dramatiškai – net ne parų, bet valandų arba minučių laikotarpiu, todėl labai svarbi aktyvi šių pacientų būklės stebėseną, greitas sprendimų priėmimas, deguonies terapijos metodų tinkamas parinkimas arba keitimas bei, nepavykus užtikrinti reikiamos oksigenoterapijos ir progresuojant kvėpavimo nepakankamumui, bendradarbiavimas su gydytojais anesteziologais reanimatologais, perduodant tolesnę pacientų priežiūrą ir gydymą į Intensyviosios terapijos skyrių.

Iki šiol nebuvo susidūrę su tokia fiziologine reakcija, kuri literatūroje nurodoma kaip „tylioji“ arba „laimingoji“ hipoksija (angl. „silent“ or „happy“ hypoxia). Tai išskirtinis COVID-19 požymis, pasireiškiantis hipoksija be kliniškai pastebimų dusulio simptomų (t. y. be paciento subjektyvaus dusulio pojūčio) ir yra nepriklausomas blogos prognozės požymis. Todėl, dirbant su COVID-19 sergančiais, reikalingas ypatingas budrumas, atidumas kiekvienai detalei, aktyvi paciento būklės stebėseną ir gebėjimas greitai priimti gydymo taktikos sprendimus.

Darbas su pacientais, sergančiais sunkia COVID-19, suteikė neįkainojamos patirties ir padėjo įvaldyti naujus deguonies terapijos gydymo metodus, tokius kaip, deguonies terapija per didelės tėkmės nosies kaniules (DTNK). Šis gydymo metodas sukurtas kaip alternatyva neinvazinei plaučių ventilacijai ir taikomas tada, kai nepavyksta užtikrinti oksigenacijos rodiklių įprastomis priemonėmis (mažos tėkmės nosies kaniulėmis, deguonies kauke, deguonies kauke su rezervuaru), padeda atitolinti, netgi išvengti intubacijos ir dirbtinės plaučių ventilacijos. Naudojant šį deguonies terapijos metodą galima tiekti iki 50–60 l/min. pašildyto ir sudrėkinto tam tikros pastovios koncentracijos deguonį, tuo tarpu įprastomis priemonėmis, tokiomis kaip, kaukė su rezervuaru galime tiekti tik iki 15 l/min. deguonį.



Kauno klinikų COVID-19 Antrojo skyriaus gydytojų pulmonologų komanda (iš kairės): pulmonologijos specialybės vyresnioji gydytoja–rezidentė Ieva Dimienė, dr. Neringa Vagulienė (vadovė), Greta Musteikienė

Reikėtų paminėti, kad deguonies terapija per DTNK reikalauja aktyvios pacientų stebėsenos, dažno arterinio kraujo dujų monitoravimo, siekiant įvertinti gydymo deguonimi veiksmingumą ir šis gydymo metodas dažniausiai taikomas Intensyviosios terapijos skyriuose arba intensyviosios stebėsenos palatose, tačiau puikiai deguonies terapiją per DTNK įsisavinome

ir taikome COVID-19 Antrajame skyriuje. Taip pat svarbu paminėti, kad šia liga serga tiek žmonės, nesergantys gretutinėmis ligomis, tiek sergantys įvairiomis lėtinėmis ligomis, dėl to, dirbant šiame skyriuje, buvo puiki proga atnaujinti ir patobulinti žinias bendrosios terapijos bei klinikinės farmakologijos srityse.

Kauno klinikų COVID-19 Antrojo skyriaus komandoje dirba daugiau gydytojų pulmonologų: tai gydytoja pulmonologė Greta Musteikienė, pulmonologijos specialybės vyresnioji gydytoja–rezidentė Ieva Dimienė (nuotr.), artimai bendradarbiaujama su Pulmonologijos klinikos vadovu prof. Skaidriumi Miliausku, Kraujagyslių ir difuzinių ligų sektoriaus vadove doc. Kristina Biekšiene. Kadangi COVID-19 gydymas ne visada pasibaigia praėjus izoliaciniam laikotarpiui, daliai pacientų išlieka deguonies terapijos poreikis, tolesniam gydymui, vėlyvosioms komplikacijoms arba liekamiesiems pokyčiams patikslinti pacientai perkeliama į Pulmonologijos skyrių.

Beveik 6 mėn. įtempto darbo Kauno klinikų COVID-19 Antrajame skyriuje nepraejo be pėdsako, turėjome daug iššūkių ir neabejotinai pasisėmėme daug profesinių žinių, naujų įgūdžių, įvaldėme naujus deguonies tiekimo būdus. Nors COVID-19 yra infekcinė liga, tačiau šiuo pandeminiu laikotarpiu, ypač svarbus vaidmuo tenka gydytojui pulmonologui (ne tik gydytojui infektologui) dėl ligos sukeltų komplikacijų, vėlyvųjų liekamųjų pokyčių stebėsenos plano sudarymo ir gydymo.

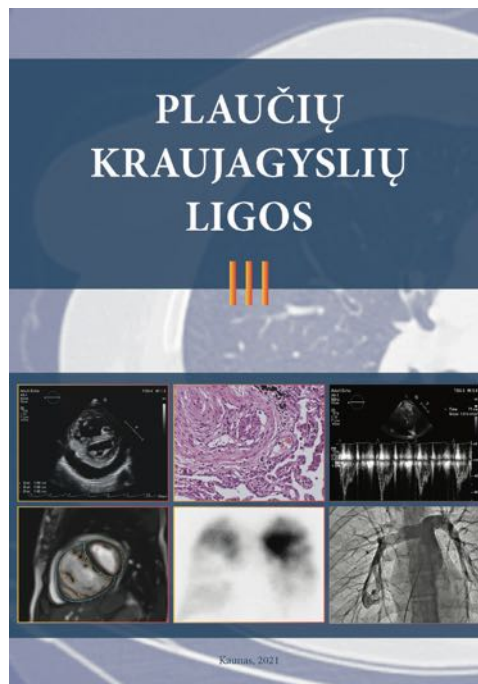
Išleista pirmoji mokomoji knyga „Plaučių kraujagyslių ligos“

DEIMANTĖ HOPPENOT
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Plaučių kraujagyslių ligos – tai ūminės ir lėtinės ligos, kurių metu dėl įvairių priežasčių pažeidžiamos plaučių arterijos, arteriolės, kapiliarai arba venos. Tai sudėtinga ir įdomi medicinos sritis, o gydytojai, kurie diagnozuoja ir gydo šią patologiją, neretai susiduria su daug iššūkių.

2021 m. gegužės mėn. Pulmonologijos klinikos vadovo prof. Skaidriaus Miliausko iniciatyva išleista pirmoji mokomoji knyga „Plaučių kraujagyslių ligos“. Lietuvoje iki šiol nebuvo išleista atskiro leidinio, skirto tik plaučių kraujagyslių ligoms. Knygos idėją paskatino noras visą naujausią medžiagą apie plaučių kraujagyslių ligas pateikti viename leidinyje lietuvių kalba. Mokomoji knyga parašyta Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos klinikos gydytojams glaudžiai bendradarbiaujant su kitų klinikų bei kitų Kauno klinikų filialų gydytojais ekspertais. Knygos autoriai remėsi naujausiomis rekomendacijomis bei daugeliu mokslinių straipsnių. Kad būtų lengviau suprasti šią sudėtingą patologiją, knygoje pateikiami klinikinės praktikos pavyzdžiai.

Knygos pradžioje primenama apatinių kvėpavimo takų, plaučių bei jų kraujagyslių anatomija. Kituose skyriuose išsamiai supažindinama su plaučių kraujotaka: nagrinėjamos dešiniojo skilvelio ir plaučių kraujotakos savybės, dešiniojo skilvelio nepakankamumo mechanizmai ir priežastys bei išsamiai aprašomas invazinis plaučių kraujotakos tyrimas. Didelis dėmesys skiriamas plaučių kraujagyslių ligų diagnostikai. Knygoje taip pat aptariamos atnaujintos, optimizuotos plaučių embolijos diagnostikos ir gydymo rekomendacijos. Platus ir svarbus knygos skyrius skirtas plautinei hipertenzijai – patofiziologiniam sutrikimui, kuris gali pasitaikyti esant dau-



geliui klinikinių būklių bei komplikuoti daugumą širdies ir kraujagyslių sistemos, kvėpavimo sistemos ligų. Pateikiama naujausia plautinės hipertenzijos apibrėžties, klasifikavimo, diagnostikos ir gydymo galimybių apžvalga. Paskutiniame knygos skyriuje nagrinėjama ir apžvelgiama plaučių kraujagyslių navikų diagnostika bei gydymas.

Knygoje aptartos temos yra svarbios gydytojams pulmonologams, kardiologams, radiologams, reumatologams, širdies ir krūtinės ląstos chirurgams, vidaus ligų, šeimos ir kitų specialybių gydytojams. Mokomoji knyga taip pat skirta medicinos studentams, rezidentams bei slaugytojoms. Autoriai tikisi, jog paprastai pateikta medžiaga suteiks gilesnių žinių apie šią sudėtingą patologiją, paskatins labiau ja domėtis ir padės priimti srendimus klinikinėje praktikoje.

Pradėtas vykdyti naujas Lietuvos mokslo tarybos finansuojamas mokslininkų grupių projektas „Kraujo eozinofilų potipių specifinės miRNR kaip biožymenys ir gydymo taikiniai sergant astma“

EGLĖ JURKEVIČIŪTĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos (LSMU MA) Pulmonologijos klinikoje 2021 m. birželio mėn. pradėtas vykdyti Lietuvos Mokslo Tarybos finansuojamas mokslininkų grupių projektas „Kraujo eozinofilų potipių specifinės miRNR kaip biožymenys ir gydymo taikiniai sergant astma“ (finansavimo sutarties Nr. S-MIP-21-17), bendradarbiaujant su Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centro Žmogaus genomo tyrimų grupe. Numatyta projekto trukmė – iki 2023 m. gruodžio 31 dienos, projektui vadovauja LSMU MA Pulmonologijos klinikos vadovas prof. Skaidrius Miliauskas. Projektas apima medicinos, biochemijos, biologijos, genetikos, epigenetikos ir epigenomikos mokslo kryptis.

Astma yra viena labiausiai paplitusi neuzkrečiama kvėpavimo takų liga visame pasaulyje ir vis dar nepakankamai efektyviai diagnozuojama bei gydoma. PSO skaičiavimai atskleidė, kad 2016 m. visame pasaulyje nuo astmos mirė 400 tūkstančių žmonių ir dar beveik 25 milijonai mirė nuo su astma susijusių priežasčių, o sergamumas ir mirštamumas nuo šios ligos drastiškai didėja kiekvienais metais. Astma yra heterogeniška liga, kuriai būdingi įvairūs fenotipai ir endotipai, kurie skiriasi savo etiologija, patogenezė bei gydymo perspektyvomis. Projekto idėja susijusi su didėjančiu sergamumu eozinofilinės astmos fenotipu, kuris yra pagrindinis bei dažnai susijęs su sunkesne ligos eiga. Neseniai nustatyti du eozinofilų potipiai, kurie skiriasi savo biologinėmis savybėmis: plaučių rezidentiniai eozinofilai – homeostatinės ląstelės, kurių pirminė funkcija yra išlaikyti audinių homeostazę, ir uždegiminiai eozinofilai – tai uždegiminės ląstelės, kurios daugiausia įtrauktos į imuninį orga-

nizmo atsaką. Skirtingų eozinofilų potipių buvimas leidžia manyti, kad jų poveikis plaučių struktūrinėms ląstelėms taip pat yra skirtingas.

Pastaraisiais metais keletas tyrimų susiejo mikroRNR (miRNR) su plaučių ligomis, tokiomis kaip astma. Eozinofilinės astmos fenotipas gali būti susijęs su pakitusia eozinofilų potipiams specifinių miRNR raiška. Pakitęs eozinofilų išskiriamų miRNR profilis sergant astma yra nauja tyrimų sritis, kurioje pirmieji rezultatai pasirodė tik 2019 m. Projekte iškelta hipotezė, kad eozinofilų potipių miRNR raiškos profilio ištyrimas, jiems specifinių miRNR identifikavimas kraujyje bei naujų inhibitorių prieš miRNR pritaikymas galėtų žymiai pagerinti individualizuoto astmos gydymo perspektyvas.

Vykdomas projektas yra tęsinys šiuo metu vykdomo mokslinio tyrimo „Skirtingų eozinofilų fenotipų biologinė reikšmė sergant lėtinėmis obstrukcinėmis plaučių ligomis“. Pastarojo tyrimo pirmieji rezultatai apie eozinofilų potipių nevienodą pasiskirstymą žmogaus kraujyje, sergant nesunkia alergine eozinofiline ir sunkia eozinofiline astma, taip pat jų skirtingą adheziją bei išgyvenamumą davė pagrindą plėsti tyrimų sritį apie eozinofilų potipių biologinių savybių skirtumus genetiniame lygmenyje. Pradėtame vykdyti projekte siekiama sukurti originalų eozinofilų potipiams specifinių cirkuliuojančių miRNR rinkinį, kuris galės pasitarnauti kaip biožymuo identifikuojant eozinofilinės astmos pacientus ankstyvojoje stadijoje leidžiant prognozuoti ligos vystymosi eigą. Taip pat, remiantis miRNR raiškos skirtumais tarp eozinofilų potipių, bus sukurti inhibitoriai prieš specifines miRNR bei jų efektyvumas išbandytas kombinuotų kultūrų tarp eozinofilų ir bronchų lygiųjų raumenų ląstelių modelyje.

Išleista informacinė knygelė pacientams apie plaučių vėžį

JURGITA MATULIONĖ
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Plaučių vėžys išlieka viena labiausiai paplitusių onkologinių ligų. 2018 m. nustatyta 2,0 milijonai naujų plaučių vėžio atvejų, o tai sudarė 11,6 proc. visų naujų vėžio atvejų. Lietuvoje kasmet užregistruojama apie 1500 naujų plaučių vėžio atvejų. Plaučių vėžys – viena pagrindinių vyrų ir moterų mirties nuo vėžio priežasčių, nuo kurio kasmet miršta daugiau nei 1,1 milijono žmonių. Nepaisant naujausių plaučių vėžio diagnostikos metodų, daugumai pacientų nustatoma pažengusi liga, todėl gerinti plaučių vėžio diagnostikos ir gydymo rezultatus yra vienas pagrindinių iššūkių, su kuriuo susiduria sveikatos priežiūros specialistai ne tik Lietuvoje, bet ir visame pasaulyje.

Atsižvelgiant į plaučių vėžio svarbą, kasdienius gydytojų iššūkius, gydant šią ligą, 2007 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ir Lietuvos sveikatos priežiūros specialistų draugijų bendru darbu parengtos ir publikuotos „Plaučių vėžio diagnostikos ir gydymo rekomendacijos“ (redaktorius prof. Marius Žemaitis). Šios rekomendacijos kas kelerius metus atnaujinamos pagal pateikiamus naujus duomenis, publikuojamas tarptautines gaires. 2020 m. pavasarį pristatytas šeštasis „Plaučių vėžio diagnostikos ir gydymo rekomendacijų“ leidinys.

Norint pasiekti geriausių plaučių vėžio gydymo rezultatų, svarbi ne tik gydytojų kompetencija, skiriamas gydymas, bet ir paciento bendradarbiavimas. Pacientui efektyviai komunikuoti ir bendradarbiauti su gydytoju padeda ligos bei jos gydymo suvokimas. Šiuolaikiniai pacientai domisi savo liga, ieško informacijos internete, tačiau neretai susiduria su problema, kai informacijos yra per daug, ji netiksli, o kartais net klaidinanti.

Daugiau nei prieš 20 metų Plaučių vėžio aljansas (angl. *Lung Cancer Alliance*) Jungtinėse Amerikos Valstijose paskelbė Plaučių vėžio žinomumo dieną, siekdamas atkreipti žmonių dėmesį ir padėti laiku atpažinti būdingus plaučių vėžio simptomus. Ilgainiui ši



inicijatyva išsivystė į pasaulinę ir šiuo metu plaučių vėžio problemoms skiriamas visas mėnuo. Kasmet lapkritis skelbiamas plaučių vėžio žinomumo mėnesiu. Tikslas – paskatinti žmones anksčiau kreiptis į gydytoją, mokyti apie plaučių vėžį, akcentuoti šios ligos gydymo pažangą ir svarbiausia – parodyti savo paramą pacientams bei jų artimiesiems. Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos inicijatyva, siekiant pagerinti gydytojų ir pacientų bendradarbiavimą bei padidinti pacientų informuotumą, parengta ir išleista knygelė „Ką verta žinoti sergantiesiems plaučių vėžiu?“.

Leidinyje pateikiama informacija plaučių vėžiu sergantiems pacientams ir jų šeimos nariams apie plaučių vėžį, diagnostikos, gydymo savitumus, šalutinius gydymo reiškinius. Šios knygelės tikslas – trumpai pateikti atsakymus į pacientams išskylančius klausimus apie plaučių vėžį, kad netektų ieškoti nepatikrintos informacijos internete, teirautis kaimynų arba draugų. Tikimės, kad šis leidinys bus naudingas tiek su plaučių vėžio diagnoze susidūrusiems pacientams, tiek jų artimiesiems, suteiks žinių ir paskatins aktyviai klausyti gydytojo, motyvuos rūpintis savo sveikata bei ieškoti gydymo metu išskylančių problemų sprendimo būdų.

Dėmesys astmai ir ja sergantiesiems

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ

Astma – plačiai paplitusi liga, kuriai būdinga banguojanti eiga ir simptomų heterogeniškumas. Jei astma yra lengva arba vidutinio sunkumo, nėra dažnų paūmėjimų, ja sergančiojo priežiūra paprastai nesudėtinga. Jei žmogus serga sunkia astma, dažnai kartojasi paūmėjimai, tai priežiūra, gydymas ir stebėseną kelia iššūkių. Su sunkumais susiduria tiek gydytojas, tiek pacientas, todėl labai svarbu didinti žinomumą, šviesti visuomenę. Geriau pažįstant ligą, tam tikrais atvejais galima išvengti

sunkios astmos eigos, paūmėjimų. Jei astma jau diagnozuota, pacientui pagalba prieinama. Nerimą kelią tie atvejai, kai yra astmai būdingi simptomai, tačiau jie ignoruojami ar nepakankamai sergančiojo įvertinami, tokiu būdu atitolinant vizitą pas gydytoją.

2021 m. gegužės 5 d. buvo paminėta Pasaulinė astmos diena, siekiant atkreipti visuomenės dėmesį į šią ligą. Tai kasmetė tradicija, ne tik priminusi apie aktualią sveikatos problemą, bet ir pandemijos laikotarpiu įnešusi daugiau spalvų.



Pasaulinė astmos diena 2021 (nuotrauka iš asmeninio archyvo)

Geriamieji gliukokortikoidai astmai gydyti. Metas pokyčiams

IT IS TIME TO CHANGE THE USE OF ORAL GLUCOCORTICOIDS IN ASTHMA

SKAIDRIUS MILIAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Geriamieji gliukokortikoidai vis dar plačiai vartojami astmai, ypač sunkiai, gydyti. Dažnai jie tęsiami ilgą laiką skiriant didelėmis dozėmis. Geriamųjų gliukokortikoidų vartojimas yra susijęs tiek su ūminėmis, tiek su lėtinėmis komplikacijomis, nepageidaujama poveikiais. Dėl kumuliacinio poveikio, netgi vartojant šiuos vaistus didesnėmis dozėmis trumpalaikiais, bet pasikartojančiais kursais, nepageidaujamo poveikio rizika būna didesnė, palyginus su gydymu ilgesnį laiką, tačiau santykinai mažesnėmis dozėmis. Biologinių vaistų sukūrimas žymiai sumažino geriamųjų gliukokortikoidų vartojimą kitoms ligoms, bet ne astmai gydyti. Vis dėlto reikia mažinti geriamųjų gliukokortikoidų vartojimą sergant astma, o jei juos skirti būtina, tuomet kaip įmanoma mažesnėmis dozėmis.

Reikšminiai žodžiai: astma, sunki astma, geriamieji gliukokortikoidai, biologiniai vaistai.

Summary. Oral glucocorticoids continue to be commonly used and overused to manage asthma across the disease spectrum, particularly for severe asthma. Long-term use results in acute and chronic adverse effects. Patients receiving repeated short-term, high dosages may incur a greater risk of adverse events than those receiving long-term, low dosages. The risk of adverse events increases with the cumulative dosage of oral glucocorticoids. Despite the availability of new well-tolerated, effective, targeted biologic medications, oral glucocorticoids remain one of the treatment options in the current asthma guidelines. The introduction of biologics has led to a reduction in systemic glucocorticoids use in other disease areas but not in asthma. The usage of these medications should be reduced as much as possible, and if oral glucocorticoids are prescribed, they should be prescribed at lesser dosages.

Keywords: asthma, severe asthma, oral glucocorticoids, biological therapy.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.704>

IVADAS

Astma yra lėtinė uždegiminė kvėpavimo takų liga, kuria pasaulyje serga apie 339 milijonai žmonių [1]. Apie 4–8 proc. sergančiųjų liga išlieka nekontroliuojama, būna dažni paūmėjimai. Norint išlaikyti simptomų kontrolę, reikalingas gydymas sisteminiiais gliukokortikoidais [2]. Šie vaistai astmai gydyti vartojami nuo 1956 m., pastebėjus, kad pagerina astmos (simptomų ir paūmėjimų) kontrolę [3]. Vis dėlto ilgalaikis gliukokortikoidų vartojimas yra susijęs su reikšmingais nepageidaujama poveikiais [4].

GERIAMŪJŲ GLIUKOKORTIKOIDŲ VARTOJIMO PROBLEMA

Jau 50 metų sisteminiai gliukokortikoidai, dažniausiai geriamieji, ir žymiai rečiau leidžiamieji išlieka astmos paūmėjimų ir sunkios astmos gydymo kertiniu akmeniu [3, 5]. Įkvėpiamieji gliukokortikoidai daugumai sergančiųjų astma yra tokie pat veiksmingi kaip ir sisteminiai. Kaip kontroliuojamieji vaistai astmai gydyti įkvėpiamieji gliukokortikoidai pradėti vartoti 1972 m. [5, 6] ir šiuo metu tai yra pagrindiniai

vaistai. Norint pasiekti ir išlaikyti astmos simptomų kontrolę, mažinti paūmėjimų riziką bei įkvėpiamųjų gliukokortikoidų dozę, šie vaistai skiriami kartu su kitais kontroliuojamaisiais vaistais, dažniausiai su ilgo veikimo β_2 agonistais, rečiau su leukotrienų receptorių antagonistais [5]. Kai, skiriant gydymui įkvėpiamuosius gliukokortikoidus su ilgo veikimo β_2 agonistais ir pridėtiniais vaistais (pvz., leukotrienų receptorių antagonistais, muskarino receptorių blokatoriais), nepasiekiami laukiami rezultatai, gydymas stiprinamas papildomai skiriant sisteminius gliukokortikoidus. Neseniai sukurti ir kasdienėje praktikoje prieinami biologiniai vaistai pasirodė esantys veiksmingi siekiant astmos kontrolės. Jie sumažina paūmėjimų riziką, trumpo veikimo β_2 agonistų ir geriamųjų gliukokortikoidų poreikį, turi gerą saugumo profilį. Pirmasis biologinis vaistas 2003 m. Jungtinių Amerikos Valstijų Maisto ir vaistų administracijos (angl. *Food and Drug Administration*, FDA) patvirtintas kaip papildomas kontroliuojamasis vaistas buvo omalizumabas – antikūnas prieš imunoglobuliną E (anti-IgE) [7]. Vėliau sunkiai eozinofiliniai astmai gydyti patvirtinti antikūnai prieš interleukiną 5 (anti-IL-5, mepolizumabas ir

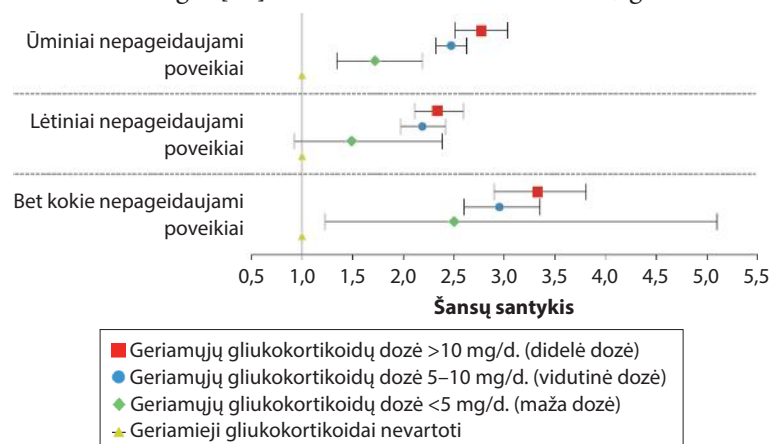
Pulmonologija ir alergologija

reslizumabas) bei antikūnas prieš interleukino 5 receptorių (anti-IL-5Ra, benralizumabas) [8]. Taip pat visai neseniai vidutinio sunkumo ir sunkiai eozinofilinei arba nuo geriamųjų gliukokortikoidų priklausomai astmai gydyti patvirtintas dupilumabas (antikūnas prieš interleukiną 4 ir interleukiną 13, anti-IL-4/IL-13) [9]. Nepaisant to, kad šiuo metu biologiniai vaistai astmai gydyti yra plačiai prieinami ir gerai toleruojami bei yra saugūs, geriamieji gliukokortikoidai vis dar išlieka ypač plačiai vartojami ir rekomenduojami dabartinėse astmos gairėse [5, 10]. Atkreiptinas dėmesys į tai, kad šie vaistai turi būti skiriami kuo mažesnėmis dozėmis. Dėl jų, kaip papildomų vaistų vartojimo, turėtų būti sprendžiama įvertinus biologinių vaistų vartojimo galimybę (kai astma išlieka nekontroliuojama skiriant didesnes inhaliuojamųjų gliukokortikoidų dozes, t. y. 5-ta gydymo pakopa pagal GINA, angl. *Global Initiative for Asthma*, ir Lietuvos astmos diagnostikos ir gydymo rekomendacijas) [5, 10]. Kai yra astmos paūmėjimas, GINA rekomenduoja skirti trumpus 5–7 dienų geriamųjų gliukokortikoidų kursus. Astmai gydyti gali būti skiriami pakartotiniai trumpalaikiai arba ilgalaikiai geriamųjų gliukokortikoidų gydymo kursai, ir pacientai gali tapti nuo šių vaistų priklausomi. Atlikta 2010–2017 m. 139 stebimųjų tyrimų ir duomenų bazių analizė parodė, kad sisteminiai gliukokortikoidai, įskaitant ir ilgalaikį jų skyrimą, toliau plačiai ir dažnai nepagrįstai vartojami astmai gydyti, taip pat ir esant sunkiai astmai [11]. Šios analizės duomenimis, geriamieji gliukokortikoidai įprastai buvo vartojami maždaug pusei bendrosios astmos populiacijos ilgiau kaip vienerius metus. Kitų tyrimų duomenimis, tiek trumpalaikis, tiek ilgalaikis sisteminių gliukokortikoidų vartojimas, ypač didesne vaisto doze, yra susijęs su ūminiais ir lėtiniais nepageidaujamais poveikiais [11]. Daugelis pacientų, kuriems nuolat skiriami sisteminiai gliukokortikoidai, yra santykinai šiems vaistams atsparūs, norimas rezultatas nepasiekiamas, tačiau gliukokortikoidai toliau ilgą laiką tęsiami vis didesnėmis dozėmis [12].

Tam, kad geriamieji gliukokortikoidai turi savo svarbą ir išlieka astmos diagnostikos ir gydymo gairėse, tikėtina, įtakos turi lengvas šių vaistų prieinamumas, patogus vartojimas, maža kaina, lyginant su naujaisiais biologiniais vaistais. Dalis pacientų nejučia didesnio gliukokortikoidų dozės sumažinimo poveikio dėl individualaus atsparumo nepageidaujamiems gliukokortikoidų poveikiams. Kiti pacientai tiesiog nenori sumažinti geriamųjų gliukokortikoidų vartojimo arba atsisako gydymo naujais biologiniais vaistais. Geriamųjų gliukokortikoidų vartojimas kitų ligų, kurioms per pastaruosius 20 metų atsirado

biologinės terapijos galimybės, gydymui, žymiai sumažėjo. Kaip pavyzdys galėtų būti reumatoidinis artritas, kurio gydymas, sumažinus geriamųjų gliukokortikoidų vartojimą, pradėjus skirti biologinius vaistus, žymiai atpigo [13, 14]. Apibendrinus, skirtingai nuo kitų medicinos sričių astmai gydyti vartojamų geriamųjų gliukokortikoidų kiekis nesumažėjo [15]. Įtakos gali turėti ir tai, kad biologiniai vaistai astmai gydyti sukurti neseniai.

Taigi, astma yra lėtinė uždegiminė kvėpavimo takų liga, o gliukokortikoidai yra veiksmingi vaistai, pvz., ankstyvas jų vartojimas astmos paūmėjimui gydyti skubiosios pagalbos skyriuose sumažina hospitalizacijos dažnį [16], todėl greičiausiai jų visiškai išvengti negalima. Geriamieji gliukokortikoidai skiriami plačiame dozių intervale [17, 18]. Europos realaus gyvenimo tyrimo duomenimis, dienos gliukokortikoidų dozė svyruoja nuo 14,3 iki 26,5 mg [19]. Nors geriamieji gliukokortikoidai yra veiksmingi, dėl pasireiškiančių nepageidaujamų poveikių jų dozė turėtų būti mažinama iki mažiausios veiksmingos, taip pat turi būti siekiama juos vartoti kuo trumpiau. Įvairios su gliukokortikoidų vartojimu susijusios komplikacijos, tokios kaip infekcijos, cukrinis diabetas, osteoporozė, psichikos sutrikimai, pasireiškia pacientams, vartojantiems šiuos vaistus ilgai, palyginus su kontrolinėmis tyrimų grupėmis. Be to, didelių gliukokortikoidų dozių vartojimas yra susijęs su didesniais sveikatos priežiūros sistemos kaštais. Tai, kad nepageidaujamų poveikių atsiradimas priklauso nuo geriamųjų gliukokortikoidų dozės juos vartojant ilgą laiką sunkiai astmai gydyti, patvirtino nepriklausomi tyrimai (1 pav.) [20]. Nepageidaujami poveikiai pasireiškia netgi nuo santykinai mažų geriamųjų gliukokortikoidų dozių – mažesnių kaip 5 mg per dieną. Nėra „saugaus“ dozavimo, nesukeliantčio nepageidaujamų poveikių vaistus vartojant ilgai [19]. Remiantis šiais duomenimis, geresnės as-



1 pav. Sisteminių gliukokortikoidų sukeliami nepageidaujami poveikiai, priklausomai nuo dozės

Geriamųjų gliukokortikoidų dozė, mažesnė nei 5 mg per parą, laikoma maža, 5–10 mg per parą – vidutinė, >10 mg per parą – didelė. Šansų santykis >1 apibūdina didesnę su geriamųjų gliukokortikoidų vartojimu susijusių nepageidaujamų poveikių riziką.

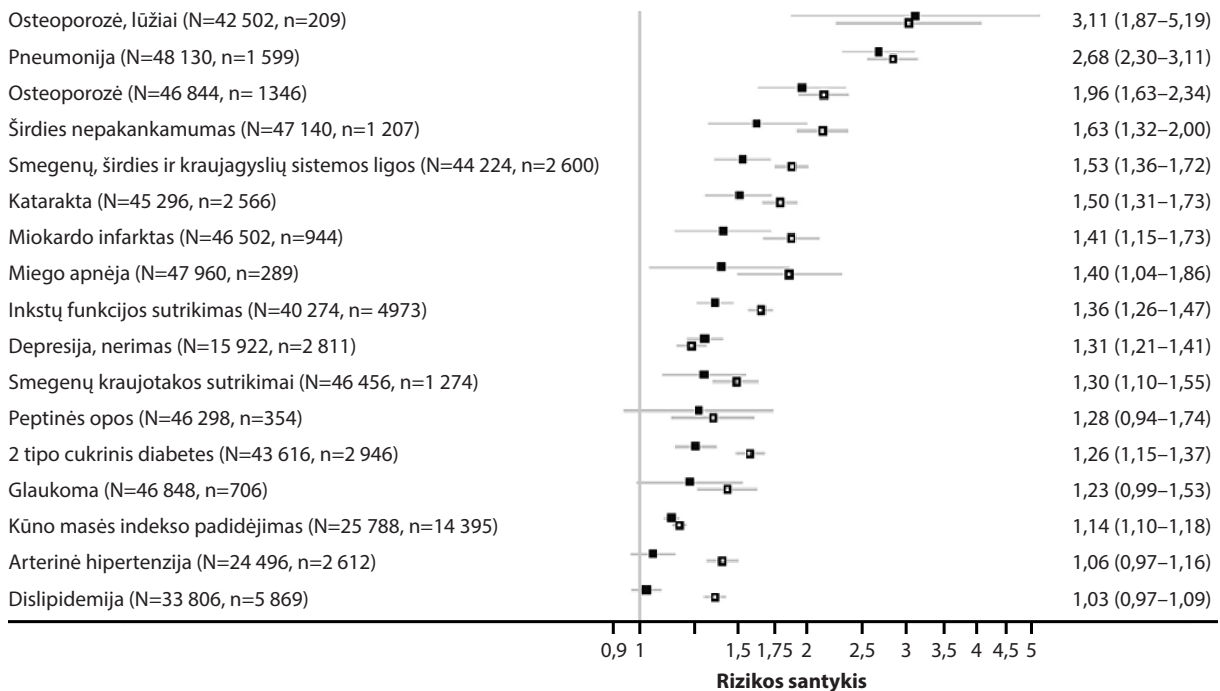
tmos kontrolės perspektyva, numatant skirti ilgą laiką geriamuosius gliukokortikoidus, turi būti vertinama atsižvelgiant į nepageidaujamų poveikių atsiradimo riziką [20]. Didelės kohortos (1984–2017 m.) tyrime nustatyta, kad, skyrus pirmą kartą astmai gydyti sisteminius gliukokortikoidus, reikšmingai dažniau atsirado iš anksto žinomi nepageidaujami poveikiai, lyginant su tais pacientais, kuriems toks gydymas neskirtas. Skiriant geriamuosius gliukokortikoidus, nustatyta žymiai didesnė osteoporozės, lūžių, pneumonijos, širdies ir smegenų kraujagyslių (įskaitant miokardo infarktą, širdies nepakankamumą, galvos smegenų kraujotakos sutrikimą), kataraktos, miego apnėjos, depresijos arba nerimo, 2 tipo cukrinio diabeto, nutukimo ir kitų ligų rizika (2 pav.). Be to, patvirtinta sąsaja tarp gliukokortikoidų sąlygotų nepageidaujamų poveikių baigčių, kumuliacinės ir kasdienės šių vaistų dozės [21].

Išanalizavus 702685 Prancūzijos, Vokietijos, Italijos ir Jungtinės Karalystės sergančiųjų astma 2011 m. liepos – 2018 m. vasario mėnesių elektronines sveikatos istorijas, nustatyta, kad 14–44 proc. asmenų vartojo geriamuosius gliukokortikoidus, o 6–9 proc. vartojo dideles jų dozes kuriuo nors stebėsenos laikotarpiu metu [22].

Sunkia astma serga maždaug 5–10 proc. visų astma sergančiųjų [23]. Šiuo atveju pasiekti ligos kontrolę nėra lengva, net kai vaistai vartojami teisingai ir nėra aiškių blogos ligos kontrolės priežasčių [23]. Pacientams būna gyvybei pavojingi astmos paūmėjimai, žymiai pablogėja gyvenimo kokybė. Nors įkvepiamieji

gliukokortikoidai skiriami didelėmis dozėmis, tačiau nepaisant to, gydymo geriamaisiais gliukokortikoidais tam tikrais atvejais išvengti nepavyksta. Palyginus nedidelei sergančiųjų astma daliai tenka skirti beveik pusę visų astmai gydyti skiriamų išlaidų [24]. Skiriant sunkios astmos gydymą, reikia žinoti apie greitai kintančias naujas gydymo galimybes, kintamą supratimą apie ligą. Atsižvelgiant į tai, 2018 m. pacientų organizacijų, profesinių draugijų pastangomis paskelbta chartija, skirta pacientų, sergančių sunkia astma, gydymui gerinti (angl. *A Charter to Improve Patient Care in Severe Asthma*) su joje esančiais šešiais principais, išreikštais sergančiųjų žodžiais [25]:

1. „Aš turiu teisę, kad, kai mano sunki astma negali būti sėkmingai gydoma pirminėje sveikatos priežiūros grandyje, būčiau laiku siunčiamas konsultuoti specialistui“. Yra duomenų, kad kai kuriems pacientams tenka laukti iki septynerių metų, kol būna siunčiami gydytojo specialisto konsultacijai. Sergantiejiems jau būna išbandyti įvairūs gydymo būdai, jie patiria vaistų sukeltus nepageidaujamus poveikius.
2. „Aš turiu teisę, kad man sunkios astmos diagnozę patvirtintų ekspertų komanda“. Sunkios astmos diagnostikai reikalingas nuodugnus ištyrimas, todėl tai turi atlikti gydytojas specialistas (gydytojas pulmonologas arba gydytojas alergologas ir klinikinis imunologas).
3. „Turi būti nustatytas mano sunkios astmos fenotipas“.



2 pav. Nepageidaujamų poveikių, vartojant sisteminius gliukokortikoidus, rizikos santykis

Rizikos santykiai pateikiami (su 95 proc. pasikliautinoju intervalu) kiekvienam nepageidaujamam poveikiui sisteminius gliukokortikoidus vartojusių astma sergančiųjų asmenų grupėje (palyginus su sisteminių gliukokortikoidų nevartojusiais sergančiais). Neužpildyti kvadratai rodo nekoreguotus rezultatus, o užpildyti kvadratai – koreguotus. Koreguoti rizikos santykiai (su 95 proc. pasikliautinaisiais intervalais) pateikiami dešinėje.

Pulmonologija ir alergologija

Kvėpavimo takų uždegimo tipas, alergija, nutukimas, amžius, kada prasidėjo astma, bronchų obstrukcija, paūmėjimai, jautrumas gliukokortikoidams – tai požymiai, pagal kuriuos gali būti išskirtas konkretus ligos fenotipas.

4. „Aš turiu teisę į gydymą, kuris mažina sunkios astmos įtaką mano kasdieniam gyvenimui, užtikrinant kokybišką ligos priežiūrą“.

Sunki astma skiriasi nuo lengvos ir vidutinės. Dažnai pacientai negali atlikti įprastų kasdienių veiksmų, užsiimti norima veikla [26].

5. „Aš nenoriu būti priklausomas nuo geriamųjų gliukokortikoidų“.

Nauji biologiniai vaistai išplečia sunkios astmos gydymo galimybes.

6. „Aš turiu teisę gauti kokybišką pagalbą, nepriklausomai nuo to, kur gyvenu arba kur noriu tą pagalbą gauti“.

Septynių Europos šalių tyrimas parodė, kad astmos gydymas ir kontrolė yra blogesni nei apibrėžia GINA. Dauguma suaugusiųjų (49,5–73,0 proc.) ir daug vaikų (38,4–70,6 proc.) tik po įvykusių astmos paūmėjimų apsilanko pas sveikatos priežiūros specialistus [27, 28].

Esant didžiuliui poreikiui mažinti sisteminių gliukokortikoidų vartojimą sergant astma, atsirado tam tikslui skirta tarptautinė iniciatyva (angl. *Oral Corticosteroid Stewardship Statement*) [29]. Tam, kad eliminuoti perteklinį neteisingą geriamųjų gliukokortikoidų vartojimą, nereikia skirti šių vaistų, kai galima jų išvengti, arba skirti tik esant pagrįstam poreikiui (1 lentelė).

1 lentelė. Geriamųjų gliukokortikoidų vartojimo strategija sergant astma

Išvengimas	Teisingas vartojimas
Eliminuoti astmos rizikos veiksnius	Vartoti tik kai kliniškai pateisinama
Optimizuoti astmos gydymą	Vartoti mažiausią veiksmingą dozę ir kaip įmanoma greičiau ją mažinti
Laiku siųsti pacientus konsultuoti specialistui	Stebėti dėl nepageidaujamų poveikių
Naudoti kitus gydymo būdus (be geriamųjų gliukokortikoidų)	Mokyti pacientus ir gydytojus apie gliukokortikoidų vartojimo rizikas

APIBENDRINIMAS

Geriamieji gliukokortikoidai vis dar plačiai vartojami astmai, ypač sunkiai, gydyti, dažnai tęsiant ilgą laiką ir skiriant per dideles dozes. Geriamųjų gliukokortikoidų vartojimas yra susijęs tiek su ūminiais, tiek su lėtiniais nepageidaujamais poveikiais. Vartojant geriamuosius gliukokortikoidus didesnėmis dozėmis pasikartojančiais trumpalaikiais kursais yra didesnė nepageidaujamų poveikių rizika dėl kumuliacijos, lyginant su gydymu ilgą laiką mažesnėmis dozėmis. Biologinių vaistų sukūrimas sumažino geriamųjų gliukokortikoi-

dų vartojimą kitoms ligoms, bet ne astmai gydyti. Tai siejama ir su neseniai sukurtais biologiniais vaistais ir kiek apribotu prieinamumu. Atsiradus naujiems veiksmingiems biologiniams vaistams, mažinant astmos simptomus, paūmėjimų riziką, atsiranda prielaida apskritai mažinti geriamųjų gliukokortikoidų vartojimą ir užtikrinti, kad būtų vartojamos kuo mažesnės jų dozės sergant astma.

LITERATŪRA

1. Asthma. World Health Organization. Internetinė prieiga: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/asthma> (žiūrėta 2021 03 20).
2. Volmer T, Effenberger T, Trautner C, Buhl R. Consequences of long-term oral corticosteroid therapy and its side-effects in severe asthma in adults: a focused review of the impact data in the literature. *Eur Respir J*. 2018;52(4):1800703.
3. Alangari AA. Corticosteroids in the treatment of acute asthma. *Ann Thorac Med* 2014;9:187–92.
4. Price DB, Trudo F, Voorham J, Xu X, Kerckhof M, Ling Zhi Jie J, et al. Adverse outcomes from initiation of systemic corticosteroids for asthma: long-term observational study. *J Asthma Allergy* 2018;11:193–204.
5. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. 2020. Internetinė prieiga: <https://ginasthma.org/reports> (žiūrėta 2021 03 20).
6. British Thoracic and Tuberculosis Association. Inhaled corticosteroids compared with oral prednisone in patients starting long-term corticosteroid therapy for asthma: a controlled trial by the British Thoracic and Tuberculosis Association. *Lancet*. 1975;2:469–73.
7. Israel E, Reddel HK. Severe and difficult-to-treat asthma in adults. *N Engl J Med*. 2017;377:965–6.
8. Pelaia C, Vatrella A, Bruni A, Terracciano R, Pelaia G. Benralizumab in the treatment of severe asthma: design, development and potential place in therapy. *Drug Des Devel Ther*. 2018;12:619–28.
9. FDA approves Dupixent (dupilumab) for moderate-to-severe asthma. Internetinė prieiga: <https://www.drugs.com/new-drugs/fda-approves-dupilumab-moderate-severe-asthma-4848.html> (žiūrėta 2021 03 20).
10. Biekšienė K, Malakauskas K, Danila E, Zablockis R, Blažienė A, Miliauskas S, ir kt. Lietuvos suaugusiųjų sunkios astmos diagnostikos ir gydymo rekomendacijos 2017. *Pulmonologija ir alergologija*. 2017;1[1]:8–16.
11. Bleecker ER, Menzies-Gow AN, Price DB, Bourdin A, Sweet S, Martin AL, et al. Systematic Literature Review of Systemic Corticosteroid Use for Asthma Management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;201(3):276–93.
12. Meyers DA, Bleecker ER, Holloway JW, Holgate ST. Asthma genetics and personalised medicine. *Lancet Respir Med* 2014;2:405–15.
13. Chen HC, Huang CD, Chang E, Kuo HP. Efficacy of omalizumab (Xolair) in patients with moderate to severe predominantly chronic oral steroid dependent asthma in Taiwan: a retrospective, population-based database cohort study. *BMC Pulm Med*. 2016;16:3.
14. Alten R, Nüßlein H, Galeazzi M, Lorenz HM, Nurmohamed MT, Bensen WG, et al. Decreased use of glucocorticoids in biological experienced patients with rheumatoid arthritis who initiated intravenous abatacept: results from the 2-year ACTION study. *RMD Open* 2016;2:e000228.
15. Menzies-Gow A, Canonica GW, Winders TA, Correia de Sousa J, Upham JW, Fink-Wagner AH. A charter to improve patient care in severe asthma. *Adv Ther*. 2018;35:1485–96.
16. Rowe BH, Spooner C, Ducharme FM, Bretzlaff JA, Bota GW. Early emergency department treatment of acute asthma with systemic corticosteroids. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;[1]:CD002178.
17. Sweeney J, Patterson CC, Menzies-Gow A, Niven RM, Mansur AH, Bucknall C, et al. Comorbidity in severe asthma requiring systemic corticosteroid therapy: cross-sectional data from

- the Optimum Patient Care Research Database and the British Thoracic Difficult Asthma Registry. *Thorax*. 2016;71(4):339-46.
18. **Ortega HG, Liu MC, Pavord ID, Brusselle GG, FitzGerald JM, Chetta A, et al.** Mepolizumab treatment in patients with severe eosinophilic asthma. *N Engl J Med*. 2014;371(13):1198-207.
 19. **Molimard M, Buhl R, Niven R, Le Gros V, Thielens A, Thirlwell J, et al.** Omalizumab reduces oral corticosteroid use in patients with severe allergic asthma: real-life data. *Respir Med*. 2010;104(9):1381-5.
 20. **Dalal AA, Duh MS, Gozalo L, Robitaille MN, Albers E, Yancey S, et al.** Dose-Response Relationship Between Long-Term Systemic Corticosteroid Use and Related Complications in Patients with Severe Asthma. *J Manag Care Spec Pharm*. 2016;22(7):833-47.
 21. **Price DB, Trudo F, Voorham J, Xu X, Kerkhof M, Ling Zhi Jie J, et al.** Adverse outcomes from initiation of systemic corticosteroids for asthma: long-term observational study. *J Asthma Allergy*. 2018;11:193-204.
 22. **Tran TN, King E, Sarkar R, Nan C, Rubino A, O'Leary C, et al.** Oral corticosteroid prescription patterns for asthma in France, Germany, Italy and the UK. *Eur Respir J*. 2020;55(6):1902363.
 23. **Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al.** International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014;43(2):343-73.
 24. The management of severe asthma: economic analysis of the cost of treatments for severe asthma. World Allergy Organisation. Internetinė prieiga: https://www.worldallergy.org/educational_programs/world_allergy_forum/anaheim2005/blais.php (žiūrėta 2021 03 20).
 25. **Menzies-Gow A, Canonica GW, Winders TA.** A Charter to Improve Patient Care in Severe Asthma. *Adv Ther*. 2018;35:1485-96.
 26. Woolcock Institute of Medical Research, HMRI, Asthma Australia. A qualitative study of the lived experience of Australians with severe asthma, Executive Summary and Final Report. 2016. Internetinė prieiga: [https:// toolkit.severeasthma.org.au/wp-content/uploads/sites/2/2018/02/Living-with-Severe-Asthma-Executive-Summary-FINAL.pdf](https://toolkit.severeasthma.org.au/wp-content/uploads/sites/2/2018/02/Living-with-Severe-Asthma-Executive-Summary-FINAL.pdf) (žiūrėta 2021 03 20).
 27. **Manson SC, Brown RE, Cerulli A, Vidaurre CF.** The cumulative burden of oral corticosteroid side effects and the economic implications of steroid use. *Respir Med*. 2009;103(7):975-94.
 28. **Vermeire PA, Rabe KF, Soriano JB, Maier WC.** Asthma control and differences in management practices across seven European countries. *Respir Med*. 2002;96(3):142-9.
 29. Oral corticosteroid stewardship statement. Internetinė prieiga: <https://www.aafa.org/media/2244/oral-corticosteroid-stewardship-statement-november-2018.pdf> (žiūrėta 2021 03 20).

Sunki astma ir COVID-19

SEVERE ASTHMA AND COVID-19

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Sergančiam sunkia astma reikalinga specializuota pagalba. Pandemijos akistatoje baiminamasi, kad sunkia astma sergantys asmenys greičiau susirgs COVID-19 arba jos eiga komplikuosis. Atliktų tyrimų duomenys rodo, kad susirgimų arba komplikacijų dažnis nesiskiria nuo bendrosios populiacijos, jei užtikrinama gera astmos simptomų kontrolė ir nėra nuolatinio geriamųjų gliukokortikoidų vartojimo. Daug abejonių būta ir dėl biologinių vaistų skyrimo pandemijos laikotarpiu, tačiau esama patirtis ir atliktų tyrimų duomenys rodo, kad netgi susirgus COVID-19, biologinė terapija turi būti tęsiama, nors pradėti nerekomenduojama. Atskiras daug diskusijų sukėlęs klausimas – vakcinacija. Vis tik kol kas tai vienas veiksmingiausių būdų valdyti pandemijai ir grįžti į kasdienį gyvenimą, buvusį iki pandemijos.

Reikšminiai žodžiai: sunki astma, COVID-19, biologiniai vaistai.

Summary. Severe asthma is a disease that requires specialized help. In the face of a pandemic, it is feared that people with severe asthma will be more likely to develop COVID-19 or complicate its course. Studies have shown that the incidence of morbidity or complications does not differ from the general population in cases where good asthma control is ensured, and there is no continuous use of oral glucocorticoids. There have also been many doubts about the prescribing of biologics during a pandemic, but current experience and research suggests that biologic therapy should be continued even in the event of COVID-19, although initiation is not recommended. A separate issue that has caused a lot of debate is vaccination. Still, to this day, it's one of the most effective ways to manage a pandemic and get back to the daily life that existed before the pandemic.

Keywords: severe asthma, COVID-19, biologics.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.705>

IVADAS

Koronaviruso SARS-CoV-2 ligos (COVID-19) pandemija – rimtas iššūkis tiek astma sergantiems asmenims, tiek sveikatos priežiūros specialistams. Viena pagrindinių problemų, susijusių su COVID-19, yra baimė dėl padidėjusios rizikos užsikrėsti naujuoju koronavirusu SARS-CoV-2 arba išsivystyti sunkios eigos COVID-19 bei su ja susijusioms komplikacijoms, ypač sergantiesiems sunkia astma [1, 2]. Epidemiologiniai tyrimai rodo, kad astma sergantiems pacientams rizika susirgti sunkia COVID-19 nėra didesnė nei sveikiems asmenims [3–5], tačiau, sergant vidutinio sunkumo – sunkia astma, hospitalizacijos poreikis dėl COVID-19 didesnis [6]. COVID-19 eiga, sergant sunkia astma, priklauso nuo daugelio veiksnių, vieni svarbesnių: vyraujantis kvėpavimo takų uždegimo tipas, geriamųjų gliukokortikoidų vartojimas, gretutinės ligos. Pastarieji veiksniai siejami su sunkesne ligos eiga, kai tuo tarpu nuolatinis astmos gydymas įkvepiamaisiais gliukokortikosteroidais (IGK), gera astmos kontrolė priešingai – veikia tarsi apsauga [7]. Neatsakyta ir diskusijas keliantis klausimas yra biologinės terapijos skyrimas. Ne mažiau svarbus ir vakcinacijos savalaikiškumas. Neramina vis atsirandančios naujos viruso atmainos. Nors

daugeliui klausimų atsakymai laukia ateityje, kai bus atlikti didesnių imčių klinikiniai tyrimai, bus ilgesni stebėsenos laikotarpiai bei įgyta didesnė patirtis, vis tik tam tikros tendencijos ryškėja.

SARS-CoV-2 INFEKCIJA: IMUNOLOGIJA IR KVĖPAVIMO TAKŲ PATOFIZIOLOGIJA

Patekęs į kvėpavimo takus, SARS-CoV-2 pirmiausia prisijungia prie nosies ertmės epitelio ląstelių ir pradeda daugintis [8]. Angiotenziną konvertuojantis fermentas II (AKF2) yra pagrindinis SARS-CoV-2 ir SARS-CoV receptorius (8). Kad SARS-CoV-2 patektų į ląsteles, svarbus vaidmuo tenka proteazei TMPRSS2 [9]. Taip virusas plinta vietiskai, o įgimtas imuninis atsakas yra ribotas [8]. Šiame etape virusą galima aptikti nosiaryklės tepinėliu, o sergantysis gali užkrėsti kitus [8]. Virusas toliau plinta ir migruoja kvėpavimo takais, juos pažeisdamas bei aktyvindamas įgimtą imuninį atsaką [8]. Maždaug 80 proc. virusu užsikrėtusių pacientų liga būna lengva, deja, apie 20 proc. užsikrėtusių pacientų liga progresuoja, išsivysto plaučių infiltratai, o kai kuriems iš jų gali išsivystyti labai sunki COVID-19 [10]. Virusas pasiekia alveoles ir infekuoja II tipo alveolines ląsteles, kurių paviršiuje yra aukšta AKF2 receptorių raiška. Iš čia

virusui patekus į kraują, jis greitai plinta į kitus organus, tokius kaip širdis, inkstai, kepenys, blužnis ir kt. [11, 12]. Sukelta citokinų audra pažeidžia organus arba gali sukelti ūminio respiracinio distreso sindromą (ŪRDS) arba daugelio organų nepakankamumą [13–15]. SARS-CoV-2 virusinė infekcija veikia įgimtą imuninį atsaką, T ir B ląstelių imunitetą ir priešvirusinius neutralizuojančius antikūnus.

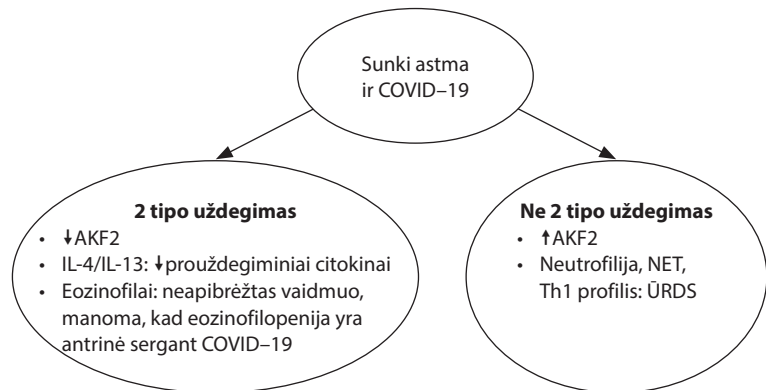
SUNKIŲ ASTMOS ENDOTIPŲ IR COVID-19 MECHANIZMŲ TARPUSAVIO RYŠYS

Dabartinis požiūris į sunkią astmą remiasi ligos klasifikavimu į fenotipus, endotipus [16]. Jei fenotipai astma sergančiusuosius klasifikuoja pagal tam tikrą vienijančią požymį, nesvarbu koks jis bebūtų, pvz., alergija, nutukimas, amžius, bronchų obstrukcija ir pan., tai, siekiant individualizuoti astmos gydymą, prognozuoti eigą, geriau pažinus astmos patogenezę liga pradėta skirstyti ir į endotipus, t. y. pagal vyraujančią būtent patogenetinį mechanizmą. Vieni dažniausiai išskiriamų endotipų yra 2-ojo ir ne 2-ojo tipo kvėpavimo takų uždegimo astma, ne retai vadinama atitinkamai 2-ojo ir ne 2-ojo tipo astma [16]. Dominuojantys astmos išsivystymo mechanizmai skirtingi, todėl ir COVID-19 eiga gali būti skirtinga (1 pav.) [17].

2-ojo tipo astma ir COVID-19

Sergant astma, ypač sunkia, dažniausiai nustatomas 2-ojo tipo kvėpavimo takų uždegimas. Svarbus vaidmuo tenka 2-ojo tipo T limfocitams pagalbininkams (Th), 2-ojo tipo B limfocitams, 2-ojo tipo įgimtoms limfoidinėms ląstelėms, 2-ojo tipo makrofagams, natūralioms žudikėms, bazofilams, eozinofilams ir putliosioms ląstelėms [18]. Įvairūs citokinai, kuriuos gamina imuninė sistema ir epitelio ląstelės, svarbūs reguliuojant uždegiminį atsaką [18]. Pavyzdžiui, interleukinas (IL) 4 ir IL-13 vaidina svarbų vaidmenį gaminant alergeniui specifinį imunoglobuliną (Ig) E, telkiant Th2 ląsteles bei eozinofilus, taip pat reguliuojant epitelio barjerą. Tuo pačiu metu IL-5, IL-9 ir IL-13 skatina eozinofiliją bei gleivių gamybą [18].

Atrodo, kad alergine astma sergantys asmenys yra linkę rečiau užsikrėsti SARS-CoV-2; tam įtakos gali turėti įvairūs veiksniai [19]. Pirmoji hipotezė siejama su IGK priešuždegiminiu veikimu ir jų neigiamu poveikiu viruso sukeltai citokinų audrai [19]. Nustatyta, kad sergant alergine astma, nustatoma mažesnė AKF₂ raiška [20], o eksperimentai *in vitro* parodė, kad pats IL-13 mažina AKF₂ raišką [20]. Įdomu ir tai, kad IGK yra susiję su mažesne AKF₂ ir T_HPRSS₂ raiška [21]. Kai kurie IGK pasižymi prastesne periferine depo-



1 pav. Pagrindinių sunkių astmos endotipų ir COVID-19 mechanizmų įrodymų santrauka (adaptuota pagal 17 šaltinį)

AKF₂ – angiotenziną konvertuojančio fermento 2 receptoriaus; COVID-19 – koronaviruso SARS-CoV-2 liga; IL – interleukinas; NET – neutrofilų tarpląstelinės gaudyklės; Th1 – 1 tipo T limfocitai pagalbininkai; ŪRDS – ūminio respiracinio distreso sindromas.

zicija, todėl mažiau paveikia 2-ojo tipo pneumocitų AKF₂ raišką [21]. Kitas svarbus aspektas yra rūkymas [21]. Rūkantiems asmenims randama didesnė AKF₂ raiška, o tai lengvina SARS-CoV-2 patekimą į plaučių ląsteles [21].

Tam tikri 2-ojo tipo imuninio atsako aspektai, įskaitant 2-ojo tipo citokinus (IL-4, IL-13 ir kt.) ir eozinofilų kaupimąsi, dėl priešuždegiminio poveikio gali veikti kaip apsauga prieš COVID-19 [18, 22]. Pavyzdžiui, IL-4 gali slopinti 1-ojo tipo imuninį atsaką [18]. Šis poveikis pasiekiamas ne tik slopinant Th1 ląstelių vystymąsi, bet ir slopinant citokinų, susijusių su 1-ojo tipo imuniniu atsaku, įskaitant IL-1β, tumoro nekrozės veiksnio α (TNF-α), IL-6 ir IL-12, gamybą [18]. Taip pat įrodyta, kad IL-13 pasižymi imunoreguliaciniu poveikiu ir slopina uždegimą skatinančių citokinų (IL-1α, IL-1β, IL-6 ir TNF-α) ir chemokinų (IL-8, MIP-1α, MIP-1β, monocitų chemotaksinis baltymas-3) sekreciją [18]. Be to, IL-13 medijuotas 2-ojo tipo uždegimas vaidina svarbų vaidmenį mažinant AKF₂ bei didinant T_HPRSS₂ raišką [21, 23]. IL-9 sumažina TNF-α ir IL-10, tačiau padidina TGF-β sekreciją ant lipopolisacharidų aktyvuotų monocitų [18]. Gali būti, kad 2-ojo tipo citokinai gali trikdyti prouždegiminių citokinų, dalyvaujančių COVID-19 patogenezėje, kaupimąsi [18].

Eozinofilai, išsiskirdami daug toksiškų baltymų ir uždegimą skatinančių mediatorių, sukelia audinių pažeidimus [24]. Taip pat gali skatinti 2-ojo tipo imuninį atsaką gaminant daugelį imunoreguliuojančių citokinų ir kitų veiksmų [24]. Nors eozinofilai gali padėti apsisaugoti nuo skirtingų virusinių infekcijų, jų vaidmuo esant SARS-CoV-2 yra nepakankamai suprantamas, galbūt net neapsaugantis [20, 25]. Daugeliui COVID-19 sergančių pacientų būdinga eozinopenija, nors ji pasireiškia ne visose kohortose [20, 24]. Šis reiškinys tikriausiai yra antrinis ir tiesiogiai neprideda prie ligos eigos [20, 24]. Imuninis eozinopenijos

Pulmonologija ir alergologija

mechanizmas sergant COVID-19 išlieka neaiškus. Vis dėlto tai tikriausiai yra daugiaveiksnis, apimantis pagrindinių eozinofilų gyvavimo ciklo etapų slopinimą, 1-ojo tipo interferono (IFN) sukeltą apoptozę ūminės infekcijos metu arba ryšį su eozinofilų priešvirusiniu suvartojimu [24]. Padidėjusi jų migracija audiniuose mažai tikėtina, nes COVID-19 sergančių pacientų plaučių audinyje eozinofilų infiltracija nebuvo nustatyta, tačiau reikalingi tolesni tyrimai [20]. Įdomus faktas yra tas, kad stacionare gydytų pacientų eozinofilų kiekis padidėdavo prieš juos išrašant iš stacionaro, o tai gali būti klinikinės būklės pagerėjimo rodiklis [24].

Ne 2-ojo tipo astma ir COVID-19

Ne 2-ojo tipo sunki astma yra atskiras endotipas, pasižymintis tokiomis savybėmis, kaip sunki ligos eiga, intensyvūs remodeliacijos procesai kvėpavimo takuose bei prastesnis atsakas į priešuždegiminį gydymą [16]. Šis ligos mechanizmas gerokai mažiau ištirtas, lyginant su 2-ojo tipo astma [16]. Buvo įvertinta keletas patogenetinių kelių, tokių kaip sutrikusi įgimto imuninio atsako reguliacija, įskaitant neutrofilų anomalijas, uždegiminis kelias ir IL-17 signalinio kelio aktyvacija [16]. Sergant sunkia astma ir vyraujant neutrofiliniam uždegimui, skatinamas transkobalamino-1, metalo-proteinazės (MMP) 9, mucinų ir oksidacinio streso atsakas [16]. Ne 2-ojo tipo sunki astma siejama su Th17 ląstelių gaminamais citokinais ir kitais imuniniais veiksniais, kurie skatina neutrofilų kaupimąsi kvėpavimo takuose ir pastarųjų struktūrinius pokyčius [16]. Vienas svarbiausių laikomas transformuojantis augimo veiksnys $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), kuris koreliuoja su padidėjusiu Th17 aktyvumu bei būtinas Th17 diferenciacijai ir IL-17A gamybai. IL-17A gali reciprokiškai sustiprinti TGF- $\beta 1$ signalinį kelią, o Th1 / Th17 arba Th2 / Th17 imuninis atsakas dar labiau sunkina ligos eigą [16]. Asmenys su dominuojančiu ne 2-ojo tipo kvėpavimo takų uždegimu ir esant didelei IFN koncentracijai, turi didelę AKF2 raišką, o tai gali padidinti SARS-CoV-2 infekcijos riziką [21], tačiau šiai išvadai patvirtinti reikia papildomų įrodymų.

Neutrofilai yra vyraujantis leukocitų potipis, infiltruojantis plaučius sergant sunkia COVID-19, o neutrofilija yra blogos prognozės požymis [20]. COVID-19 pacientų plaučių mėginių pomirtinės analizės metu pastebėta neutrofilų infiltracija plaučių kapiliaruose ir neutrofilų ekstravazacija į alveoles, Th1, Th17 uždegiminis profilis [20, 24]. Ne 2-ojo tipo kvėpavimo takų uždegimas gali sunkinti COVID-19 [7].

Esant neutrofilus aktyvinančioms sąlygoms, tokioms, kurios atsiranda sisteminio uždegimo metu, gali būti išlaisvintos neutrofilų tarpląstelinės gaudyklės (NET) [26]. Nors tai yra būdas užkirsti kelią patogenams, NET susidarymas yra susijęs su plaučių ligomis, ypač ŪRDS [26]. Sunkios COVID-19 būklės su nekontroliuojamai

progresuojančiu uždegimu, tikėtina, sukelia intensyvių nepageidaujamą signalų perdavimą tarp neutrofilų, išlaisvinančių NET, ir makrofagų IL-1 β sekrecijos [26].

SUNKIOS ASTMOS IR COVID-19 EPIDEMIOLOGIJA

Sisteminės apžvalgos neparodė, kad astma sergantys asmenys būtų dažniau linkę susirgti COVID-19, o susirgus ligos eiga neišsiskiria iš bendrosios populiacijos, išskyrus atvejus, kai nesilaikoma gydymo režimo (tai lemia blogesnę astmos kontrolę, didesnę paūmėjimų riziką), nefiksuojiama ir dažnesnių mirties nuo COVID-19 atvejų sergant astma [27–29]. Tačiau mirties nuo COVID-19 rizika padidėjo žmonėms, kuriems astmai gydyti reikia geriamųjų gliukokortikoidų, kurie serga gretutinėmis ligomis [28].

Belgijos sunkios astmos registro rezultatų duomenimis, sunkia astma sergančių asmenų kohortoje nebuvo fiksuota sunkių COVID-19 atvejų arba mirčių nuo šios ligos [30]. Italijoje tik maža dalis sunkia astma sergančiųjų, įtrauktų į Italijos sunkios astmos tinklą (angl. *Severe Asthma Network in Italy*, SANI), kohortoje, jautė simptomus, atitinkančius COVID-19, tačiau ši populiacija dažniau sirgo cukriniu diabetu ir kitomis gretutinėmis ligomis [31]; panašūs rezultatai gauti iš didelės sunkia astma sergančių ir biologiniais vaistais gydytų pacientų kohortos – SARS-CoV-2 virusas, imant mėginį iš nosiaryklės, nustatytas 0,8 proc. [32].

Manoma, kad sunkia astma sergantieji yra atsargesni už bendrąją populiaciją ir geriau laikosi socialinio atstumo bei kitų higienos priemonių, o tai gali turėti įtakos pakankamai mažam sergamumui COVID-19; taip pat sumažino kitų kvėpavimo takų virusinių infekcijų dažnį. Svarstoma, kad būtent tai turėjo įtakos ir astmos paūmėjimų sumažėjimui 2020 m. [17, 27].

KAIP ATPAŽINTI: ASTMOS PAŪMĖJIMAS, AR COVID-19?

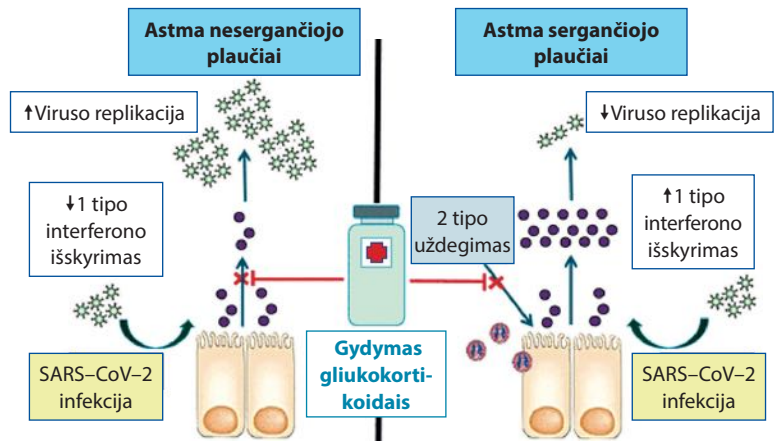
Susirgus COVID-19, gali pasireikšti simptomai, tokie kaip karščiavimas, viduriavimas, kvapo ir skonio praradimas, raumenų skausmas, nuovargis, šaltkrėtis. Tai nėra astmai būdingi simptomai. Tačiau neproduktyvus kosulys, dusulys gali klaidinti ir pasireikšti tiek astmai paūmėjus, tiek susirgus COVID-19. Vien kliniškai atskirti, ar astmos paūmėjimas yra neinfekcinis, ar infekcinis, bet sukeltas nebūtinai COVID-19, neįmanoma. Reikalingi SARS-CoV-2 virusą arba antikūnus nustatyti padedantys tyrimai. Egzistuoja pasvarstymai, kad jei simptomus slopinantys vaistai (pvz., salbutamolis) reikšmingai palengvina juntamus simptomus, tuomet tikėtina, kad pasireiškė astmos paūmėjimas, o ne COVID-19. Sergant COVID-19, įkvėpjamieji vaistai gali kiek palengvinti kvėpavimo simptomus, bet tai nebus laukiamas poveikis. Tačiau tokie spėjimai neturi patikimų juos įrodančių duomenų [33].

SUNKIOS ASTMOS GYDymo YPATUMAI PANDEMIJOS AKIVAIZDOJE

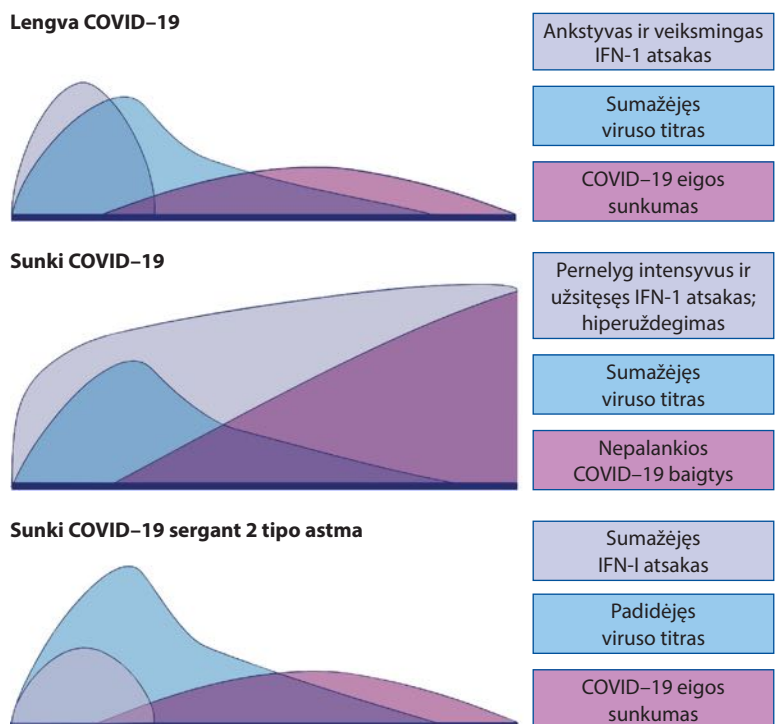
Sunkios astmos gydymas ir be COVID-19 yra sudėtingas kasdienėje medicinos praktikoje [34, 35]. Pasaulinė astmos iniciatyva (GINA) rekomenduoja astma sergantiems asmenims COVID-19 epidemijos metu ir toliau vartoti įkvėpiamuosius kontroliuojamuosius vaistus, įskaitant IGK, siekiant palaikyti kiek įmanoma geresnę astmos kontrolę. Ekspertai rekomenduoja, kad sunkia astma sergantiems pacientams, kuriems reikalingas ilgalaikis gydymas geriamaisiais gliukokortikoidais, šį gydymą tęsti kuo mažesnėmis dozėmis, kad būtų sumažinta sunkių astmos paūmėjimų rizika; svarstyti biologinės terapijos skyrimo galimybes (jei atitinka indikacijas ir tuo metu neserga COVID-19) – tikėtina, kad tai gali padėti išvengti geriamųjų gliukokortikoidų vartojimo [36].

Astma nesergančiam asmeniui susirgus COVID-19 PSO nerekomenduoja skubėti skirti įkvėpiamuosius arba sisteminius gliukokortikoidus dėl jų galimo poveikio slopinti pagrindinių I ir III tipo priešvirusinių mediatorių gamybą. Tačiau, sergant astma, ypač sunkia astma ir nustačius COVID-19, rekomenduojama gana anksti skirti hormonus. Kodėl, jeigu žinoma, kad astma yra susijusi su sutrikusiu IFN atsaku į virusines infekcijas [37, 38]. Remiantis turimais įrodymais, tam tikri astmos patogenetiniai mechanizmai gali atsverti galimą neigiamą priešvirusinio imuniteto poveikį. 2-ojo tipo uždegimas nustatomas didelei daliai astma sergančių asmenų ir padidėja esant virusinei infekcijai [39, 40]. Kombinuotų ląstelių kultūrose pastebėta, kad skreplių eozinofilija neigiamai koreliuoja su sutrikusia IFN indukcija [37] ir 2-ojo tipo uždegimo mediatoriai (IL-4, IL-13) gali tiesiogiai slopinti I tipo IFN epitelio gamybą [41]. IFN- α gali papildomai slopinti Th2 ląstelių poliarizaciją T ląstelių ar mišrių leukocitų kultūrų modeliuose, susilpnindamas transkripcijos veiksnio GATA3, IL-4, IL-5 ir IL-13 raišką [42, 43]. Taigi, gliukokortikoidai slopina 2-ojo tipo uždegimą, todėl jų vartojimas, esant su COVID-19 susijusiam astmos paūmėjimui, gali atstatyti susilpnėjusį priešvirusinį imunitetą (2, 3 pav.).

Siekiant sumažinti sunkia astma sergančių asmenų apsilankymus gydymo įstaigose pandemijos metu, Britanijos krūtinės ląstos draugijos (angl. *the British Thoracic Society*) rekomendacijose pabrėžiama astmos veiksmų



2 pav. Kortikosteroidų veikimo skirtumai sergant ir nesergant astma [44]



3 pav. 1 tipo interferono atsakas sergant SARS-CoV-2 infekcija ir nesant astmos bei sergant 2 tipo astma [46]

plano svarba. Rekomenduojama, kad pacientai žymėtusi kasdienius astmos simptomus, kaip sekasi laikytis skirto gydymo režimo, nurodant konkrečias rekomendacijas, kaip elgtis namuose, jei simptomai suintensyvėtų [45].

Stebint astma sergančius pacientus, ypač COVID-19 pandemijos metu, daugelyje šalių pradėta sparčiau naudoti skaitmenines technologijas, telemedicinos priemones, siekiant tęsti sveikatos priežiūrą ir mažinti galimą užsikrėtimo atvejų kiekį. Vis tik pabrėžtina, kad tokiu būdu ne visuomet pavyksta užtikrinti paslaugų kokybę ir efektyvumą.

SUNKI ASTMA IR BIOLOGINĖ TERAPIJA

Vienas labiausiai neraminančių klausimų klinikinėje praktikoje, gydant sunkia astma sergančiuosius, biolo-

Pulmonologija ir alergologija

ginė terapija. Nuolat keliamas klausimas, ar šį gydymą, susirgus COVID-19, tęsti, o gal nutraukti? Ar biologinių vaistų skyrimas nesudaro sąlygų greičiau užsikrėsti SARS-CoV-2? Mažas eozinofilų kiekis (eozinopenija) laikomas COVID-19 sunkumo biožymeniu [47], todėl eozinofilų sunaudojimas, kurį sukelia monokloniniai antikūnai, kurie blokuoja IL-5 arba jo receptorių, įneša sumaišties.

Monokloniniai antikūnai, nukreipti prieš 2-ojo tipo uždegimą, gali sumažinti COVID-19 sukeltų sunkių astmos paūmėjimų riziką slopinant lėtinį kvėpavimo takų uždegimą ir, manoma, taip pat dėl specifinių priešvirusinių savybių [19]. Omalizumabas, sujungiantis IgE, galėtų lemti mažesnę 1-ojo tipo IFN gamybą [19]. Mepolizumabas, reslizumabas (Lietuvoje nėra) ir benralizumabas veikia didindami IFN- γ ir IL-5 informacinės ribonukleorūgšties (iRNR) santykį, kuris susijęs su mažesniu viruso išsiskyrimu ir greitesniu ligos klirensu [19]. Kita vertus, teoriškai būtų pagrįsta manyti, kad 2-ojo tipo uždegimą veikiantys monokloniniai antikūnai gali būti susiję su padidėjusia COVID-19 rizika (infekcijos arba sunkumo požiūriu). Tačiau šios prielaidos turimi duomenys nepagrindžia [48]. Taip pat nenustatyta reikšmingų skirtumų ir tarp skirtingais monokloniniais antikūnais gydytų pacientų grupių didelės kohortos tyrimuose [30, 48].

Atliktas stebėsenos tyrimas [30], siekiant įvertinti COVID-19 pasireiškimą suaugusiesiems, sergantiems sunkia astma. Naudoti Belgijos sunkios astmos registro (angl. *the Belgian Severe Asthma Registry*, BSAR) duomenys ir vertinta, ar pacientams, sergantiems sunkia astma ir vartojantiems biologinius vaistus, rizika susirgti sunkia COVID-19 yra didesnė, palyginus su tais, kurie šių vaistų nevartoja. Iš 777 sunkia astma sergančių asmenų, su kuriais buvo susisiekiama, 676 (87 proc.) sutiko dalyvauti stebėsenos tyrime. Telefonu arba ambulatorinių vizitų metu buvo pateiktas standartizuotas klausimynas ir teirautasi simptomų, kuriais remiantis būtų galima įtarti COVID-19, pastarosios ligos gydymo ligoninės stacionare atvejus, atliktus diagnostinius tyrimus, nustatančius COVID-19 – molekulinis (nosiaryklės mėginių polimerazės grandininę reakciją (PGR)) arba serologinius (nustatant SARS-CoV-2 antikūnus – IgG kiekį). 266 (39 proc.) iš 676 dalyvių per apklausos vykdymo 4 mėn. patyrė bent vieną COVID-19 būdingą simptomą. Dusulys (n=172; 25 proc.), rinorėja (n=116; 17 proc.), kosulys su skrepliavimu (n=107; 16 proc.), galvos skausmas (n=105; 16 proc.) ir krūtinės skausmas (n=69;

1 lentelė. COVID-19 diagnostinių tyrimų ir šia liga susirgusių asmenų gydymo rezultatai pagal sunkios astmos gydymo biologiniais vaistais grupę [33]

	Biologiniai vaistai neskiriami	Anti-IgE	Anti-IL5 arba anti-IL5R
PGR testas, siekiant nustatyti COVID-19, n (proc.):			
• Neatliktas	211	118	281
• Teigiamas	3 (1,2)	0 (0)	6 (2)
• Neigiamas	28	11	18
IgG testas, siekiant nustatyti persirgtą COVID-19:			
• Neatliktas	241	99	238
• Teigiamas	0	4 (3,1)	4 (1,3)
• Neigiamas	1	26	63
Kasdien vartojami geriamieji gliukokortikoidai, n	20 (8,2)	10 (7,8)	28 (9,2)
Vidutinė dozė mg (prednizolono ekvivalentais)	4,5	5,0	5,0
COVID-19 patvirtinta, n	3	4	7
Proc. pogrupio	1,2 [#]	3,1 [#]	2,3 [#]
Hospitalizavimas, n	1	0	4
Stacionarinio gydymo trukmė, d.	5	NA	4,5 (2–8 ribos)
Deguonies terapija, n	1	0	2
Deguonies terapijos trukmė, d.	3	NA	5,5 (3–8 ribos)

NA: netaikoma; [#]Chi kvadrato testas, p>0,05.

10 proc.) buvo dažniausiai pranešami simptomai. Tik 35 (5 proc.) pacientams pasireiškė staigūs uoslės ir skonio pojūčio sutrikimai, kurie laikomi gana specifiniais COVID-19 simptomais [14], o tai rodo, kad simptominės COVID-19 dažnis tiriamojame populiacijoje buvo nedidelis. Identifikuota 14 pacientų, sergančių COVID-19, patvirtinta PGR ir (arba) specifiniu IgG tyrimais (1 lentelė). Iš šių 14 pacientų penki (visi PGR teigiami) buvo gydyti stacionare (nuo 2 iki 8 dienų). Nė vienam nebuvo pasireiškęs sunkus astmos paūmėjimas ar poreikis gydyti sisteminiais gliukokortikoidais, nebuvo gydymo Intensyviosios terapijos skyriuose, neinvazinės, mechaninės ventiliacijos, ekstrakorporinės membraninės oksigenacijos (angl. *extracorporeal membrane oxygenation*, ECMO) arba mirties atvejų. Tik trimis pacientams prireikė gydymo papildomu deguonimi (trukmė – 3–8 dienos). Krūtinės ląstos tomografija buvo atlikta keturiems stacionare gydytiems sunkia astma sergantiems pacientams, trims iš jų nustatyti plaučių infiltratai. Tyrimo metu nebuvo nustatyta didesnio sergamumo COVID-19 tarp pacientų, sergančių sunkia astma ir gydomų biologiniais vaistais, palyginus su šių vaistų nevartojančiais asmenimis (1 lentelė).

Tyrimo rezultatai parodė, kad COVID-19 paplitimas tarp sunkia astma sergančių asmenų buvo pakankamai mažas (14 iš 676 pacientų, 2,1 proc.). Nemažai atliktų tyrimų parodė panašius rezultatus, kad sunki astma nesąlygojo dažnesnio sirgimo COVID-19, taip pat nenulėmė dažnesnių mirties atvejų nuo COVID-19; tai

patvirtina ir Visuotinė astmos iniciatyva (angl. *Global Initiative for Asthma*) [27–29].

Per pirmąją SARS-CoV-2 pandemijos bangą daugelis autorių, nacionalinės ir tarptautinės mokslo draugijos paskelbė savo rekomendacijas dėl astma sergančių sunkių pacientų gydymo ir biologinių vaistų vartojimo. Dauguma pulmonologų ir alergologų ir klinikinių imunologų draugijų, gydymo gairių rekomenduoja tęsti pacientui įprastą astmos gydymą, įskaitant biologinius vaistus, kuriems šis gydymas buvo taikomas iki susergant COVID-19 [49–52], jeigu buvo nustatytas gydymasis poveikis, tačiau naujai skirti COVID-19 metu nerekomenduojama. Amerikos alergijos, astmos ir imunologijos akademija (AAAAI) nurodo, kad turimais duomenimis, gydymas monokloniniais antikūnais nepakeičia imuninio atsako, susirgus COVID-19 [53, 54].

VAKCINA

Vakcinacija, sergant sunkia astma, yra viena iš prioritetinių sričių, nes sergant sunkia lėtine kvėpavimo takų liga ir susirgus COVID-19, didesnė tikimybė sunkesnei ligos eigai. Daugiausia klausimų kelia IGK, geriamųjų gliukokortikoidų arba biologinių vaistų vartojimas ir sąveika su vakcina nuo COVID-19. Nėra duomenų, kad vartojant mažas arba vidutines IGK dozes, COVID-19 vakcinosis veiksmingumas susilpnėtų. Nepakanka duomenų ir apie dideles IGK dozes, tačiau labiau pagrįstiems rezultatams reikalingi tolesni tyrimai. Sudėtinga atsakyti, kaip veikia vakcina asmenims, nuolat vartojantiems geriamuosius gliukokortikoidus, nes pastarieji turi poveikį imuniniam atsakui. Tam vėlgi reikalingi tyrimai kaip ir su biologiniais vaistais. Taikant biologinę terapiją, rekomenduojama, kad tarp biologinių vaistų skyrimo ir vakcinosis būtų 1–7 dienų skirtumas [55].

Jei buvo nustatyta COVID-19 ir praveistas gydymas antikūnais prieš COVID-19, rekomenduojama vakcinaciją atidėti 90 dienų. Šie antikūnai gali sutrikdyti vakcinosis stimuliuojamąjį imuninį atsaką.

Vakcina draudžiama vartoti tik tuo atveju, jei yra žinoma alergija vienai iš vakcinosis sudedamųjų dalių.

IŠVADOS

Sunki astma COVID-19 pandemijos akistatoje nėra nuosprendis. Svarbu gydymo režimo laikymasis, pagal galimybes mažinamos pastoviai vartojamos geriamųjų gliukokortikoidų dozės, retinami ligos paūmėjimai vengiant žinomų trigerių. Juolab, kad sergamumas COVID-19 sunkia astma sergančių asmenų populiacijoje nėra didesnis nei bendrojoje populiacijoje. Tačiau tam reikalinga gera astmos kontrolė. Biologinės terapijos skyrimas neturi būti nutraukiamas, tačiau nerekomenduojama pradėti skirti sunkia astma ir COVID-19 sergančiam pacientui. Nors atliekamų tyrimų išties daug, tikėtina, kad galutinių rezultatų

dar teks palaukti dėl elementarių priežasčių, tokių kaip santykinai trumpa stebėsenos trukmė, didesnių tiriamųjų kohortų poreikis. Vilties teikia aktyvus vakcinosis etapas, tikintis, kad pavyks užkirsti kelią SARS-CoV-2 plitimui.

LITERATŪRA

1. Halpin DMG, Singh D, Hadfield RM. Inhaled corticosteroids and COVID-19: a systematic review and clinical perspective. *Eur Respir J*. 2020;55(5):2001009.
2. Chai CS, Liam CK. Common concerns in managing bronchial asthma during the COVID-19 pandemic. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2020;24(7):750–2.
3. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, Yuan YD, Yang YB, Yan YQ, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020;75(7):1730–41.
4. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, Hardwick HE, Pius R, Norman L, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: prospective observational cohort study. *BMJ*. 2020;369:m1985.
5. Chhibi KD, Patel GB, Vu THT, Chen MM, Guo A, Kudlaty E, et al. Prevalence and characterization of asthma in hospitalized and nonhospitalized patients with COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(2):307–14.e4.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/asthma.html> [Accessed 2021 Mar 30]
7. Maes T, Bracke K, Brusselle GG. Reply to: Inhaled Corticosteroids and COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202:900–2.
8. Mason RJ. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. *Eur Respir J*. 2020;55(4):2000607.
9. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Hérler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–80.e8.
10. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239–42.
11. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020;14(2):185–92.
12. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020;8(4):420–2.
13. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–13.
14. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506.
15. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–9.
16. Agache I. Severe asthma phenotypes and endotypes. *Semin Immunol*. 2019;46:101301.
17. Gaspar-Marques J, Zeller M. Severe asthma in the era of COVID-19: a narrative review. *Pulmonology*. 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2021.04.001> [Accessed 2021 Apr 12].
18. Liu S, Zhi Y, Ying S. COVID-19 and Asthma: Reflection During the Pandemic. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020;59(1):78–88.
19. Patrucco E, Villa E, Foci V, Benfante A, Bellocchia M, Solidoro P. Severe asthma at COVID-19 time: what is new on biologic therapies. *Minerva Med*. 2021;112(1):114–7.
20. Sokolowska M, Lukasik ZM, Agache I, Akdis CA, Akdis D, Akdis M, et al. Immunology of COVID-19: Mechanisms,

- clinical outcome, diagnostics, and perspectives-A report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). *Allergy*. 2020;75(10):2445–76.
21. **Öztürk AB, Çağlayan B.** Angiotensin Converting Enzyme-2 (ACE2) Receptors, asthma and severe COVID-19 infection risk. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2020;52(6):282–5.
 22. **Hughes-Visentin A, Paul ABM.** Asthma and COVID-19: What do we know now. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med*. 2020;14:1179548420966242.
 23. **Mortaz E, Tabarsi P, Varahram M, Folkerts G, Adcock IM.** The Immune Response and Immunopathology of COVID-19. *Front Immunol*. 2020;11:2037.
 24. **Rodrigo-Muñoz JM, Sastre B, Cañas JA, Gil-Martínez M, Redondo N, Del Pozo V.** Eosinophil Response Against Classical and Emerging Respiratory Viruses: COVID-19. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2021;31(2):94–107.
 25. **Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME.** Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):1–7.
 26. **Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, Toller-Kawahisa JE, de Lima M, Nascimento DC, et al.** SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *J Exp Med*. 2020;217(12):e20201129.
 27. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management. Available at: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2021/04/GINA-2021-Main-Report_FINAL_21_04_28-WMS.pdf [Accessed 2021 Apr 15]
 28. **Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al.** Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature*. 2020;584(7821):430–6.
 29. **Liu S, Cao Y, Du T, Zhi Y.** Prevalence of comorbid asthma and related outcomes in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9:693–701.
 30. **Hanon S, Brusselle G, Deschamphelleire M, Louis R, Michils A, Peché R, et al.** COVID-19 and biologics in severe asthma: data from the Belgian Severe Asthma Registry. *Eur Respir J*. 2020;56(6):2002857.
 31. **Heffler E, Detoraki A, Contoli M, Papi A, Paoletti G, Malipiero G, et al.** COVID-19 in Severe Asthma Network in Italy (SANI) patients: clinical features, impact of comorbidities and treatments. *Allergy*. 2021;76(3):887–92.
 32. **Matucci A, Caminati M, Vivarelli E, Vianello A, Micheletto C, Menzella F, et al.** COVID-19 in severe asthmatic patients during ongoing treatment with biologics targeting type 2 inflammation: results from a multicenter Italian survey. *Allergy*. 2021;76(3):871–4.
 33. **Lovering C.** Unpacking the Evidence on COVID-19 and Asthma. Available at: <https://www.healthline.com/health/asthma/research-update-COVID-19-and-asthma> [Accessed 2021 Apr 12].
 34. **Principe S, Benfante A, Calzetta L, Rogliani P, Scichilone N.** Age does not affect the efficacy of anti-IL-5/IL-5R in severe asthmatics. *World Allergy Organ J*. 2019;12(11):100081.
 35. **Benfante A, Principe S, Battaglia S, Scichilone N.** Are biological drugs effective and safe in older severe asthmatics? *Expert Opin Drug Saf*. 2019;18(5):369–80.
 36. COVID-19: GINA answers to frequently asked questions on asthma management. Available at: <https://ginasthma.org/covid-19-gina-answers-to-frequently-asked-questions-on-asthma-management/> [Accessed 2021 Apr 10].
 37. **Contoli M, Message SD, Laza-Stanca V, Edwards MR, Wark PA, Bartlett NW, et al.** Role of deficient type III interferon- λ production in asthma exacerbations. *Nat Med*. 2006;12(9):1023–6.
 38. **Wark PA, Johnston SL, Bucchieri F, Powell R, Pudicombe S, Laza-Stanca V, Holgate ST, Davies DE.** Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *J Exp Med*. 2005;201(6):937–47.
 39. **Johnson DJ, Makrinioti H, Rana BM, Shamji BW, Trujillo-Torralbo MB, Footitt J, et al.** IL-33-dependent type 2 inflammation during rhinovirus-induced asthma exacerbations in vivo. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(12):1373–82.
 40. **Message SD, Laza-Stanca V, Mallia P, Parker HL, Zhu J, Kebadze T, et al.** Rhinovirus-induced lower respiratory illness is increased in asthma and related to virus load and Th1/2 cytokine and IL-10 production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(36):13562–7.
 41. **Contoli M, Ito K, Padovani A, Poletti D, Marku B, Edwards MR, et al.** Th2 cytokines impair innate immune responses to rhinovirus in respiratory epithelial cells. *Allergy*. 2015;70(8):910–20.
 42. **Huber JB, Ramos HJ, Gill MA, Farrar JD.** Cutting edge: Type I IFN reverses human Th2 commitment and stability by suppressing GATA3. *J Immunol*. 2010;185(2):813–7.
 43. **Pritchard AL, Carroll ML, Burel JG, White OJ, Phipps S, Upham JW.** Innate IFNs and plasmacytoid dendritic cells constrain Th2 cytokine responses to rhinovirus: a regulatory mechanism with relevance to asthma. *J Immunol*. 2012;188(12):5898–905.
 44. **Kumar K, Hinks TSC, Singanayagam A.** Treatment of COVID-19-exacerbated asthma: should systemic corticosteroids be used? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020 Jun 1;318(6):L1244–7.
 45. Advice for healthcare professionals treating people with asthma (adults) in relation to COVID-19. British Thoracic Society. 2020 Apr 07 [Accessed 2020 Nov 5].
 46. **Carli G, Cecchi L, Stebbing J, Parronchi P, Farsi A.** Is asthma protective against COVID-19? *Allergy*. 2021;76(3):866–868. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/all.14426> [Accessed 2021 Apr 12].
 47. **Xia Z.** Eosinopenia as an Early Diagnostic Marker of COVID-19 at the Time of the Epidemic. *E Clinical Medicine*. 2020;23:100398.
 48. **Rial MJ, Valverde M, Del Pozo V, González-Barcala FJ, Martínez-Rivera C, Muñoz X, et al.** Clinical characteristics in 545 patients with severe asthma on biological treatment during the COVID-19 outbreak. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(1):487–9.e1.
 49. **Morais-Almeida M, Aguiar R, Martin B, Ansotegui IJ, Ebisawa M, Arruda LK, et al.** COVID-19, asthma, and biological therapies: What we need to know. *World Allergy Organ J*. 2020;13(5):100126.
 50. **Vultaggio A, Agache I, Akdis CA, Akdis M, Bavbek S, Bossios A, et al.** Considerations on biologics for patients with allergic disease in times of the COVID-19 pandemic: An EAACI statement. *Allergy*. 2020;75(11):2764–74.
 51. **Patrucco F, Benfante A, Villa E, Principe S, Scichilone N, Solidoro P.** Severe asthma and COVID-19: lessons from the first wave. *J Asthma*. 2020:1–7.
 52. **Izquierdo JL, Almonacid C, González Y, Del Río-Bermudez C, Ancochea J, Cárdenas R, Lumberras S, Soriano JB.** The impact of COVID-19 on patients with asthma. *Eur Respir J*. 2021;57(3):2003142.
 53. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. COVID-19, asthma and biologic therapies. Available at: <https://www.aaaai.org/ask-the-expert/covid> [Accessed 2021 Mar 30].
 54. **Morais-Almeida M, Aguiar R, Martin B, Ansotegui IJ, Ebisawa M, Arruda LK, et al.** COVID-19, asthma, and biologic therapies: what we need to know. *World Allergy Organ J*. 2020;13(5):100126.
 55. Allergy and Asthma Network. COVID-19 Vaccine and Asthma. What You Need to Know. Available at: <https://allergyasthmanetwork.org/news/covid-vaccine-and-asthma/> [Accessed 2021 Mar 30].

Pulmonologija ir alergologija

2020 m. lapkritį PSO paskelbė žinias apie naują su gyvūnais, t. y. audinėmis susijusią viruso atmainą Danijoje, kuriai būdingos kai kurių S baltymo grandinės aminorūgščių mutacijos. Netrukus Jungtinėje Karalystėje plintačio koronaviruso atmainos tyrimai paskelbė apie 14–17 S baltymo mutacijas, iš kurių svarbiausia N501Y [6].

SARS-CoV-2 virusas į organizmą patenka per AKF2 [7]. Gausi AKF2 raiška randama epitelio, endotelio ląstelėse, jų yra inkstų, širdies ir kraujagyslių sistemos, plaučių parenchimos ląstelėse. AKF2 yra svarbi renino ir angiotenzino sistemos dalis, pasižymi širdies ir kraujagyslių sistemos bei kitų organų apsaugine funkcija bei yra taikiniai gydant arterinę hipertenziją. Kvėpavimo organuose AKF2 raiška pastebima pneumocitų (I ir II tipo) bei makrofagų paviršiuose. Šio organo pažeidimas aiškinamas ne tik AKF2 gausa, bet ir tam tikromis viruso savybėmis bei proteazių aktyvumo pokyčiais [8]. Virusų replikacija pneumocite sukelia uždegimo mediatorių, sužadinančių organizmo imuninės sistemos atsaką, išskyrimą. Makrofagai išskiria interleukiną (IL) 1 ir IL-6, naviko nekrozės faktorių (angl. *tumor necrosis factor*). IL-6 sukelia kraujagyslių išsiplėtimą, palengvina imuninės sistemos ląstelių patekimą į uždegimo židinių, padidina kraujagyslės sienelės pralaidumą ir skysčio patekimą į tarpląstelinį tarpą. Neutrofilai išskiria reaktyvias deguonies formas bei proteinazes, suardydami infekuotas ląsteles. Alveolių ląstelių pažeidimas, skysčio kaupimasis, surfaktanto nepakankamumas lemia alveolių kolapso ir dujų apytakos sutrikimą, gali atsirasti hipoksemija ir ūminis kvėpavimo sindromas. Perteklinis imuninės sistemos atsakas, išplitęs visame organizme, sukelia sisteminio uždegimo sindromą, dar vadinamą citokinų audra. Kyla hipotenzijos ir šoko bei dauginio organų nepakankamumo ir mirties pavojus.

COVID-19

Ligos inkubacinis periodas paprastai trunka nuo 0 iki 14 parų [9]. Koronaviruso sukelta liga COVID-19 prasideda panašiais į gripą simptomais: karščiavimu, nuovargiu, sausu kosuliu. Kiek vėliau ima varginti gerklės skausmas, dusulys ir spaudimo jausmas krūtinėje. Dažni simptomai yra kaulų ir sąnarių bei galvos skausmas, širdies plakimas bei virškinamojo trakto simptomai, tokie kaip, pykinimas, viduriavimas, kiek rečiau – uoslės sutrikimas, encefalitas, širdies pažeidimas. Kvėpavimo sistemos pažeidimas: dažniausia ir sunkiausia ligos komplikacija, pasireiškianti pneumonija, kvėpavimo nepakankamumu, ūminiu respiraciniu distreso sindromu [10]. Tyrimai rodo, kad arterinė hipertenzija ir cukrinis diabetas yra dažniausios gretutinės ligos, nustatytos sergantiesiems COVID-19, be to, jų buvimas (vienos, o dar labiau – keleto) yra susijęs su sunkesne ligos eiga bei neigiamomis pasekmėmis [11]. Pasaulyje mirštamumas nuo COVID-19 siekia 2–3 proc. ir pastebimai dažnesnis tarp vyresnio amžiaus žmonių [12].

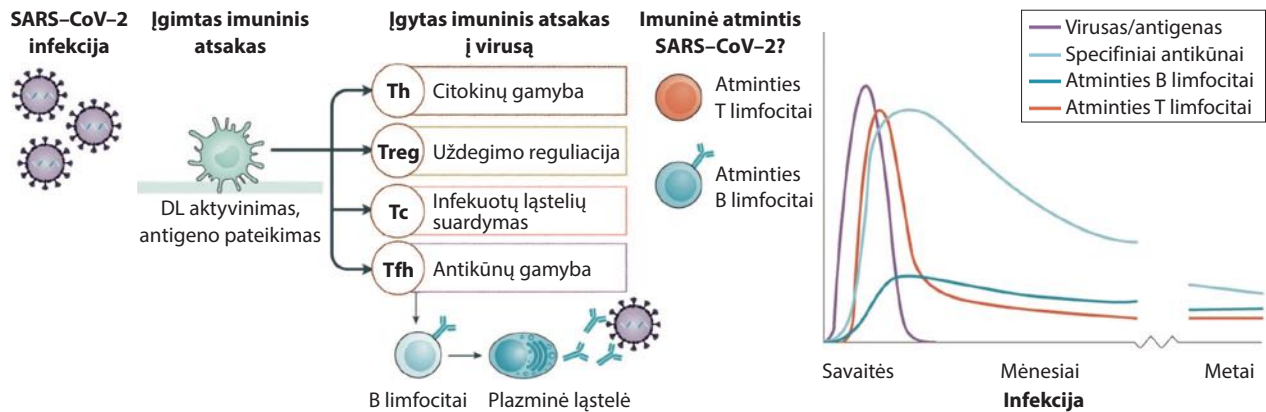
Pirmosios žinios, informuojančios tarptautinę bendruomenę apie naujo koronaviruso atsiradimą ir kliniškai jo sukeltos infekcinės ligos savybes pateiktos Kinijos mokslininkų 2020 m. vasario mėn. [4]. Straipsnyje aprašomi epidemiologiniai, klinikiniai, laboratoriniai bei radiologiniai pacientų (iš viso 41), kuriems patvirtinta COVID-19, duomenys, aptariama gydymo strategija bei ligos baigtys, lyginami sunkia ligos forma sirgusių ir Intensyviosios terapijos skyriuje gydytų pacientų ligos savitumai. Ligoninėje gydytų sergančiųjų SARS-CoV-2 viruso sukelta COVID-19 amžiaus vidurkis buvo 49 metai, 32 proc. asmenų sirgo cukriniu diabetu, arterine hipertenzija, širdies ir kraujagyslių ligomis. Dažniausias klinikinis požymis, kurį įvardijo sergantieji, buvo karščiavimas (98 proc.), kosulys (76 proc.), raumenų skausmas ir nuovargis (44 proc.), kiek rečiau: skrepliavimas, kraujo atkosėjimas, galvos skausmas, viduriavimas. Dusulys atsirado vidutiniškai aštuntą ligos parą ir vargino kas antrą pacientą. Limfocitų kiekio sumažėjimas bei didesnis uždegimo žymenų kraujo plazmoje kiekis sietas su sunkesne ligos eiga. Visiems sergantiems asmenims buvo nustatyti intersticinės pneumonijos rentgenologiniai požymiai, o 29 proc. sergančiųjų išsivystė ūminio respiracinio distreso sindromas. SARS-CoV-2 viremija nustatyta 15 proc., ūminis širdies pažeidimas – 12 proc. pacientų, o 15 proc. pacientų mirė.

IMUNINĖS SISTEMOS ATSAKAS Į SARS-CoV-2 VIRUSĄ

Koronavirusui patekus į organizmą, jo paviršiaus epitopus atpažįstančios struktūros sukelia nespecifinį ir specifinį imuninės sistemos atsaką, kurio supaprastinta schema pateikiama 1 pav. [13].

Pirmoji nespecifinio imuniteto grandis – tai kvėpavimo takų gleivinė, kurią sudaro specialias funkcijas atliekančios gleivinės ląstelės, gleivių sluoksnis, sekretinis A klasės imunoglobulinas bei kitos apsauginės molekulės. Manoma, kad 99 proc. ligų sukėlėjų (virusų arba bakterijų) nepatenka į organizmą būtent dėl šios nespecifinės barjerinės apsaugos. SARS-CoV-2 virusas į kvėpavimo takų epitelio ląsteles patenka prisijungęs prie AKF2 receptoriaus, aktyvina ląstelėse apsauginius mechanizmus: interferono (IFN) alfa ir beta gamybą bei išskyrimą [14].

IFN yra svarbus virusų replikacijos slopintojas. Be to, jis aktyvina ląsteles natūralias žudikes (angl. *natural killer*, NK). Aktyvintos NK ląstelės ir jų išskiriamas IFN gama sukelia infekuotų epitelio ląstelių žūtį. IFN didina ir pagrindinio audinių dermės komplekso (angl. *major histocompatibility complex*, MHC) molekulių raišką antigeną pateikiančių ląstelių (APL) paviršiuje. Epitelio ląstelės, išskirdamos neutrofilų chemotaksi aktyvinantį IL-8 bei kitus citokinus, skatina fagocituojančių ląstelių veikimą. Aktyvinti neutrofilai (fagocituojančios ląstelės), priplūsta į infekcijos židinių,



1 pav. Imunitinės sistemos atsakas į SARS-CoV-2 virusą. SARS-CoV-2 infekcija sukelia nespecifinio imuniteto reakciją, aktyvina dendritines ląsteles, sukelia specifinį T ir B limfocitų atsaką, susidaro atminties ląstelės [13]

Th – T limfocitai pagalbininkai (angl. *T helper cells*); Treg – T reguliacinių limfocitų subpopuliacija Tc – citotoksiniai T limfocitai; Tfh – T folikuliniai helperiai; DL – dendritinė ląstelė; SARS-CoV-2 – sunkaus ūminio kvėpavimo sindromo koronavirusas (angl. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*).

fagocituoja ir naikina komplemento sistemos opsonizuotas koronavirusų daleles. SARS-CoV-2 viruso infekcija ypatinga tuo, kad pažeidžia IFN gamybą ir išskyrimą. Dėl to slopinama fagocitozė, mažėja IFN stimuliuojamasis poveikis kitoms imuninės sistemos ląstelėms, slopinamas uždegimas.

Viruso daleles, pateiktas su MHC molekulėmis, per *Toll* baltymo receptorius (angl. *toll like receptor*, TLR) atpažįsta APL ir, nukeliavus į limfinius organus, pateikia specifinio imuniteto ląstelėms. Taip inicijuojamas specifinis efektorinis imuninės sistemos atsakas. Priklausomai nuo antigeno prigimties ir imuninio atsako, APL antigeną pateikia kartu su MHC I ar II tipo molekulėmis, taip sukeliama T limfocitų pagalbininkų arba citotoksinių T limfocitų atsakas. APL per IL-12 aktyvina ir NK ląsteles. Aktyvuoti citotoksiniai T limfocitai naikina viruso infekuotas ląsteles, sukeldami jų apoptozę, taip pat sudaro atminties citotoksinių T limfocitų populiaciją. Pirmo ir antro tipo T limfocitai pagalbininkai lemia efektorines specifinio ląstelinio ir humoralinio imuniteto funkcijas: aktyvina makrofagų fagocitozę ir B limfocitus, plazminių ląstelių susidarymą, antikūnų gamybą, atminties B limfocitų populiacijos susidarymą [15]. Koronavirusas sukelia įvairių limfocitų subpopuliacijų kiekybinius pokyčius dėl tiesioginio viruso poveikio ląstelėms, uždegimo tarpininkų poveikio, limfocitų persiskirtymo kraujotakoje ir uždegimo židinyje. Limfopenija yra susijusi su sunkesne COVID-19 eiga ir blogesniais baigtimis [16].

Humoralinis imuninės sistemos atsakas į SARS-CoV-2 virusą susijęs su M klasės imunoglobulinų (IgM) gamyba ankstyvajame ir G klasės imunoglobulinų (IgG) gamyba vėlyvesniame infekcijos etape. Prasidėjus koronaviruso sukeltai infekcijai, B limfocitai gamina antikūnus prieš stipriomis imunogeninėmis savybėmis pasižymintį N baltymą, tuo tarpu antikūnus prieš S baltymą galima nustatyti praėjus tik 4–8 dienoms nuo simptomų pradžios. Reikia pabrėžti, kad

A klasės imunoglobulinai (IgA), IgM, IgG prieš viruso N ir S baltymus gali būti randami skirtingu laiku nuo ligos pradžios. IgM ir IgA klasės antikūnus galima nustatyti jau penktą dieną nuo simptomų pradžios, o IgG klasės – tik po 14 dienų. IgM klasės antikūnų kiekis ima mažėti praėjus 3 mėn., tuo tarpu IgG nustatomas dar ilgą laiką pasveikus [17].

VAKINOS NUO COVID-19

Vakcinos stimuliuoja imuninę sistemą apsaugoti nuo pakartotinės infekcijos arba ligos. Tai patvirtinta priemonė, gebanti išnaikinti arba kontroliuoti gyvybei pavojingas užkrečiamąsias ligas, ir kasmet išsaugo 2–3 milijonus gyvybių visame pasaulyje. Tai viena ekonomiškai veiksmingiausių sveikatos investicijų. Šiuo metu pasaulyje vakcinų pagalba galima kontroliuoti 28 užkrečiamąsias ligas. Likviduoti raupai, poliomyelitas, sumažėjo sergamumas tymais, difterija, stablige, virusiniu hepatitu B, raudonuke.

Daugelis pasaulio mokslininkų aktyviai kuria skiepus nuo COVID-19, įgalinančius sustabdyti mirtiną SARS-CoV-2 viruso sukeltą pandemiją. Iki klinikiniai bei įvairių fazių klinikiniai tyrimai šiuo metu atliekami daugiau nei su 200 vakcinų – kandidatų. Tai gyvos (susilpnintos arba inaktyvintos) viruso, subvienetų, virusų pernešėjų arba vektorių, deoksiribonukleino (DNR) arba RNR vakcinų. Kuriamų vakcinų nuo COVID-19 tipai, mechanizmai ir pavyzdžiai pateikiami 1 lentelėje.

Informacinės arba matricinės RNR (mRNR) vakcinos nuo COVID-19 buvo sąlyginai patvirtintos Europos vaistų agentūros (angl. *European Medicines Agency*, EMA) ir Valstybinės vaistų kontrolės tarnybos (VVKKT) 2020 m. pabaigoje. Jos pirmosios buvo pradėtos naudoti mūsų šalyje. Šių vakcinų sudėtis – tai viengrandė mRNR (informacinė) su kepurintu (angl. *capped*) 5' galu, pagaminta taikant neląstelinį *in vitro* nurašymą (transkripciją) nuo atitinkamų DNR šablonų, koduojančių SARS-CoV-2 viruso smaigalio (S) baltymą.

Pulmonologija ir alergologija

1 lentelė. Vakcinų nuo COVID-19 tipai, mechanizmai ir pavyzdžiai [18]

Vakcinos tipas	Imunogenas	Privalumai	Trūkumai	Vakcinos pavyzdys	SARS-CoV 2 vakcinos
Gyva susilpninta vakcina	Ligos nesukeliantis gyvas virusas	Sukelia tokį patį ląstelinį ir humoralinį imuninį atsaką, kaip infekcija	Nerekomeduojama nėščiosioms ir esant imunosupresijai	MMR (tymai, raudonukė ir epideminis parotitas) vakcina	–
Gyva inaktyvinta vakcina	Inaktyvuotas negyvas virusas	<ul style="list-style-type: none"> Stabili, nesukelia ligos Dominuoja humoralinis imuninis atsakas 	Gali būti mažai imunogeniška	Inaktyvuota poliomieliito vakcina, pasiutligės, hepatito A	Gyva inaktyvinta vakcina (Sinovac ir Sinopharm) i/r., III klinikinių tyrimų fazė
Subvienetų vakcina	Baltymas išgautas iš patogeno	Stabili, nesukelia ligos	Gali būti mažai imunogeniška	Hepatitis B	Rekombinantinis S baltymas (Sanofi+GlaxoSmithKline) i/r., II klinikinių tyrimų fazė Smaigalio receptoriaus domeną (RBD) (Kinijos Mokslų Akademija Mikrobiologijos institutas) i/r., II klinikinių tyrimų fazė
Besireplikuojančių ir nesireplikuojančių virusinių vektorių vakcina	Patogeninių virusų genai yra įterpiami į virusinį vektorių	<ul style="list-style-type: none"> Natūralios infekcijos mimikrija Sukelia stiprų imuninį atsaką Nesukelia ligos 	Buvusi ekspozicija vektoriniu virusu gali sumažinti imunogeniškumą	Ebola	<ul style="list-style-type: none"> Smaigalio baltymas ChAdOx vektoriuje (AstraZeneca) i/r., III klinikinių tyrimų fazė Smaigalio baltymas Ad26 vektoriuje (Janssen) i/r., III klinikinių tyrimų fazė Smaigalio baltymas Ad5 vektoriuje (Cansino) i/r., III klinikinių tyrimų fazė Smaigalio baltymas Ad26 & 5 vektoriuje (Gamaleya institutas) i/r., III klinikinių tyrimų fazė
Nukleorūgščių vakcina	DNR ar RNR koduojanti viruso baltymą	<ul style="list-style-type: none"> Stiprus ląstelinis imunitetas Lengva modifikuoti Nesukelia ligos 	Nukleorūgštys citoplazmoje yra nestabilios ir suardomos RNazės	COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> Smaigalio baltymo mRNR (Moderna) i/r., III klinikinių tyrimų fazė Smaigalio baltymo mRNR (Pfizer) i/r., III klinikinių tyrimų fazė Smaigalio baltymo mRNR (Curevac) i/r., III klinikinių tyrimų fazė

mRNR vakcinos yra saugios: nepatenka į branduolį ir negali įsiterpti į šeiminingo genomą, nesukelia COVID-19 ir yra apsaugotos nuo biologinės kontaminacijos [19]. mRNR vakcinos yra veiksmingos: sukelia humoralinį ir ląstelinį imuninės sistemos atsaką. Šio tipo vakcinos gali būti greitai pagaminamos, atsižvelgiant į poreikius pandemijos laikotarpiu. Tačiau mRNR vakcina yra nestabili *in vivo* ir *in vitro*, ją greitai suskaldo fermentai RNazės. Ji taip pat labai jautri temperatūros pokyčiams. Modifikuotų nukleozidų nereplikuojanti mRNR yra įterpta į lipidines nanodaleles, taip ji patenka į ląsteles šeimininges, kad sukeltų laikiną SARS-CoV-2 S antigeno raišką. Nukleotidų modifikacija apsaugo nuo nespecifinio imuniteto ir uždegimo aktyvinimo.

Publikuoti Pfizer ir BioNTech bei Moderna gamintojų III fazės placebo kontroliuojamųjų klinikinių tyrimų rezultatai. Juose dalyvavo atitinkamai daugiau nei 43 tūkstančiai [20] ir 30 tūkstančių [21] asmenų. Apsauga nuo COVID-19 bei sunkių jos formų ir vakcinų efektyvumas buvo atitinkamai – 95 ir 94,1 proc. O sunkūs sisteminiai nepageidaujami poveikiai nebuvo dažni, tai yra jų nebuvo daugiau nei kontrolinėse grupėse.

Viruso vektorių vakcina nuo COVID-19 (gamintojas „AstraZeneca“) sąlyginai patvirtinta EMA bei VVKT. Ji imta naudoti mūsų šalyje 2021 m. pirmaisiais mėnesiais. Janssen viruso vektorių vakcina nuo COVID-19 tai pat jau baigia kaupti reikalingus III fazės klinikinių tyrimų duomenis. Šią vakciną sudaro vienas rekombinantinis, negalintis replikuotis šimpanzės adenoviruso vektorius, koduojantis SARS-CoV-2 S glikoproteiną. Paskiepijus SARS-CoV-2 glikoproteinas S (nemodifikuota seka) organizme stimuliuoja neutralizuojančių antikūnų gamybą ir ląstelinį imuninį atsaką [22]. III fazės klinikiniame tyrime su daugiau nei 20 000 tiriamųjų įrodytas vakcinos efektyvumas (62 iki 90 proc. po antrosios vakcinos dozės) ir pakankamas saugumas leido naudoti šią vakciną suaugusiems asmenims.

Apibendrinus, galima teigti, kad savalaikiai plintančio koronaviruso genomo sekoskaitos tyrimai ir iššūkis pasaulio šalims suvaldyti infekcijos plitimą sudarė palankias sąlygas vakcinų kūrimo procesui. Imuninio atsako į SARS-CoV-2 virusą tyrimai ir nustatyti ląstelinio bei humoralinio atsako savitumai leido suprasti skiepijimo vertę, apsaugant nuo COVID-19. Sukurtos arba patobulintos ir šiuo metu

naudojamos naujos vakcinų gamybos technologijos. Klinikinių tyrimų su mRNR ir virusų vektorių vakcinų rezultatai rodo pakankamą jų efektyvumą ir saugumą, apsaugant suaugusiuosius nuo COVID-19 bei sunkių ligos formų. Be abejonės, liko ir nemažai neatsakytų klausimų. Besitęsianti stebėseną ir tyrimai, tikimasi, greitai laiku pateiks atsakymus į klausimus apie povakcininio imuniteto ilgalaikiškumą, pakartotinės revakcinacijos tvarką virusui keičiantis, apie vakcinacijos efektyvumą ir saugumą tarp įvairių amžiaus grupių asmenų ir sergančiųjų įvairiomis, taip pat ir imuninės sistemos ligomis.

LITERATŪRA

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536–44.
2. WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (Based on data as of the 31 December 2003).
3. Kang S, Peng W, Zhu Y, Lu S, Zhou M, Lin W, et al. Recent progress in understanding 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) associated with human respiratory disease: detection, mechanisms and treatment. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(5):105950.
4. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497–506.
5. Canedo-Marroquín G, Saavedra F, Andrade CA, Berrios RV, Rodríguez-Guilarte L, Opazo MC, et al. SARS-CoV-2: Immune Response Elicited by Infection and Development of Vaccines and Treatments. *Front Immunol.* 2020;11:569760.
6. WHO. COVID-19 Disease Outbreak News. SARS-CoV-2 Variant– United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, 2020. Available at: <https://www.who.int/csr/don/21-december-2020-sars-cov2-variant-united-kingdom/en/> accessed January 2021.
7. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020;181(2):271–80.e8.
8. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020;14(2):185–92.
9. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–20.
10. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):475–81.
11. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, Liang HR, Chen ZS, Li YM, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J.* 2020;55(5):2000547.
12. Liu K, Chen Y, Lin R, Han K. Clinical features of COVID-19 in elderly patients: A comparison with young and middle-aged patients. *J Infect.* 2020;80(6):e14–8.
13. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(10):581–2.
14. Le Bon A, Tough DF. Links between innate and adaptive immunity via type I interferon. *Curr Opin Immunol.* 2002;14(4):432–6.
15. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 2020;181(7):1489–501.e15.
16. Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, et al. Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis.* 2020;221(11):1762–9.
17. Tan YJ, Goh PY, Fielding BC, Shen S, Chou CF, Fu JL, et al. Profiles of antibody responses against severe acute respiratory syndrome coronavirus recombinant proteins and their potential use as diagnostic markers. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004;11(2):362–71.
18. Rodríguez-Coira J, Sokolowska M. SARS-CoV-2 candidate vaccines – composition, mechanisms of action and stages of clinical development. *Allergy.* 2020.
19. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(4):261–79.
20. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2603–15.
21. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med.* 2021;384(5):403–16.
22. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet.* 2021;397(10269):99–111.

Deguonies terapija per didelės tėkmės nosines kaniules esant COVID-19 sukeltam plaučių pažeidimui. Klinikinis atvejis

HIGH-FLOW NASAL CANNULAS OXYGEN THERAPY IN COVID-19-INDUCED LUNG INJURY. CLINICAL CASE

IEVA DIMIENĖ¹, GRETA MUSTEIKIENĖ¹, VILMA HOFERTIENĖ², NERINGA VAGULIENĖ¹, SKAIDRIUS MILIAUSKAS¹

¹LSMU MA Pulmonologijos klinika, ²LSMU MA Radiologijos klinika

Santrauka. COVID-19 daliai sergančiųjų gali sukelti plaučių pažeidimą ir jo sąlygotą kvėpavimo nepakankamumą. Kai tikslinių oksigenacijos rodiklių nepavyksta užtikrinti įprastomis deguonies tiekimo priemonėmis, oksigenoterapija per didelės tėkmės nosines kaniules (DTNK) gali atitolinti, netgi padėti išvengti intubacijos ir dirbtinės plaučių ventilacijos. Šiame straipsnyje pristatome pacientę, kuriai COVID-19 eigoje išsivystė kvėpavimo nepakankamumas, kuris buvo sėkmingai gydytas DTNK.

Reikšminiai žodžiai: DTNK, COVID-19, kvėpavimo nepakankamumas.

Summary. COVID-19 can cause lung injury and respiratory failure in some patients. When other means of oxygen therapy are ineffective, high-flow oxygen therapy can help to delay or even avoid intubation in some patients. In this article, we present a clinical case of a patient who had respiratory failure caused by COVID-19 and was successfully treated with high-flow oxygen therapy.

Keywords: high-flow oxygen therapy, COVID-19, respiratory failure.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.707>

IVADAS

COVID-19 sukeliama naujojo koronaviruso SARS-CoV-2, pirmą kartą identifikuoto 2019 m. gruodį Kinijoje. Nors teigiama, kad 17 proc. žmonių, infekuotų SARS-CoV-2, yra besimptomiai [1], daliai išsivysto kvėpavimo nepakankamumas.

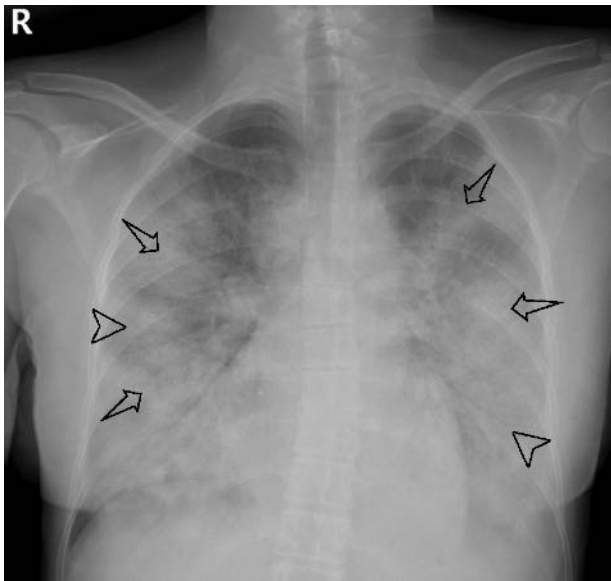
Daugumai sergančiųjų sunkia COVID-19, kai nepavyksta užtikrinti tikslinių oksigenacijos rodiklių įprastomis priemonėmis (mažos tėkmės nosinėmis kaniulėmis arba deguonies kaukėmis), gydymas DTNK gali atitolinti, netgi padėti išvengti intubacijos ir dirbtinės plaučių ventilacijos [2].

KLINIKINIS ATVEJIS

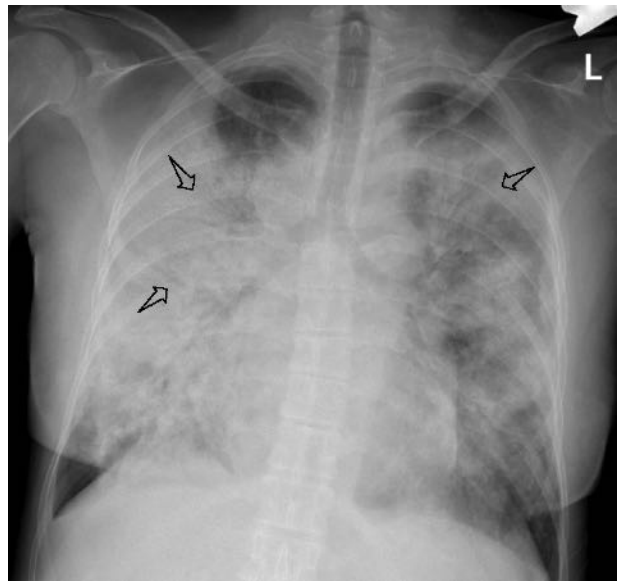
45 metų pacientė hospitalizuota į Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikos) COVID-19 Antrąjį skyrių COVID-19 infekcijos, komplikuotos abipuse pneumonija, gydymui. Atvykusi skundėsi apie savaitę trunkančiu dusuliu, bendru silpnumu, febriliu karščiavimu. Iš anamnezės žinoma, kad pacientė serga arterine hipertenzija, glaukoma, depresija, 1 tipo cukriniu diabetu su komplikacijomis – angiopatija ir nefropatija su hemodializijų poreikiu.

Hospitalizavimo dieną nustatyta C reaktyviojo baltymo (CRB) reikšmė – 421 mg/l, limfopenija ($0,5 \times 10^9/l$), D-dimerų koncentracija – 2,11 mg/l. Papildomo deguonies poreikis – 15 l/min. per kaukę su rezervuaru, hemoglobino saturacija deguonimi matuojant pulsoksimetru (SpO₂) – 93 proc. (arterinių kraujo dujų tyrime – pH 7,47, arterinio kraujo parcialinis anglies dvideginio slėgis (pCO₂) 33,6 mm Hg, arterinio kraujo parcialinis deguonies slėgis (pO₂) 60,7 mm Hg, hemoglobino saturacija deguonimi arteriniame kraujyje (SaO₂) 89,6 proc., bikarbonatų koncentracija (HCO₃) 23,7 mmol/l, bazių ekscesas (BE) 0,2). Atliktoje krūtinės ląstos rentgenogramoje edeminiai pokyčiai, „matinio stiklo“ zonos su blogai ribotais konsolidacijos plotais abipus (1 pav.), krūtinės ląstos kompiuterinės tomografijos (KT) vaizduose – virusinės pneumonijos požymiai: abipus vyravo išplitusios „matinio stiklo“ zonos su gausiais retikuliniiais intersticiumo pokyčiais („akmenų grindinio“ požymis) ir netaisyklingi konsoliduoti plaučio audinio plotai, parenchimos pažeidimas apie 50–75 proc. (2 pav.).

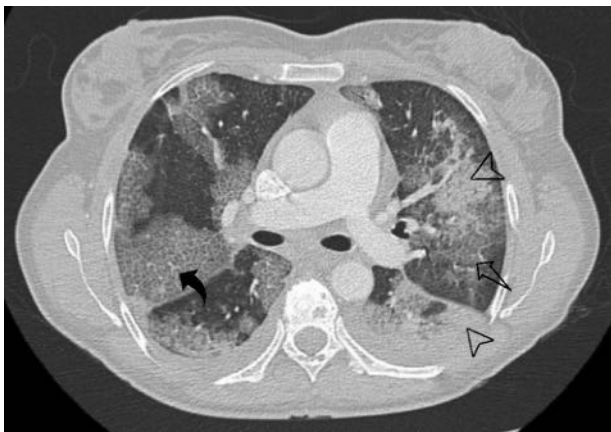
Skirta empirinė antibiotikoterapija piperacilinu/tazobaktamu, mažos molekulinės masės heparinas,



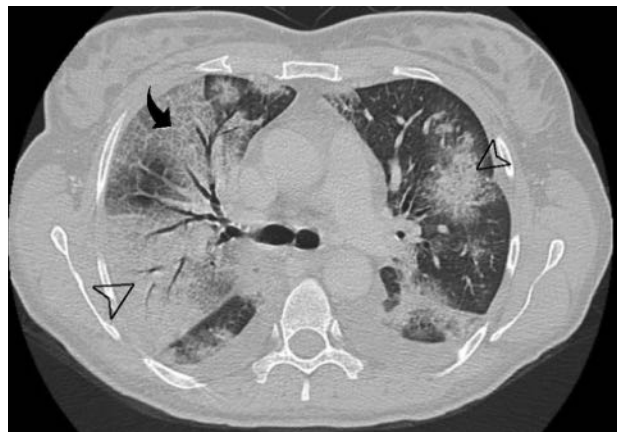
1 pav. Krūtinės ląstos rentgenograma: edeminiai pokyčiai, „matinio stiklo“ zonos (▽), konsolidacijos plotai (◁)



3 pav. Krūtinės ląstos rentgenograma: plaučių oringumas dinamikoje sumažėjo, padidėjo konsolidacijos zonų apimtis, jų fone išryškėjo orinės bronchogramos (◁)



2 pav. KT ašinis vaizdas, parenchimos langas: „akmenų grindinio“ (♣), „matinio stiklo“ (◁) zonos, konsoliduoto plaučio audinio plotai (▽) – išplitusios virusinės pneumonijos požymiai



4 pav. KT ašinis vaizdas, parenchimos langas: didesnės apimties ir intensyvumo „matinio stiklo“ ir retikulinių intersticinių pokyčių zonos (♣), labiau išreikšti konsolidacijos plotai su orinėmis bronchogramomis (▽)

deksametazonas (8 mg per parą), tęsti vartojami vaistai lėtinėms ligoms gydyti, hemodializės.

Skiriant gydymą, mažėjo uždegiminiai rodikliai bei papildomo deguonies poreikis, tačiau septintą gydymo stacionare parą vėl progresavo kvėpavimo nepakankamumas. Hipoksemija išliko ir tiekiant deguonį 15 l/min. greičiu per kaukę su rezervuaru, todėl nutarta pradėti oksigenoterapiją per didelės tėkmės nosines kaniules (DTNK) (tėkmė 35 l/min., deguonies frakcija įkvėpiamame ore (FiO₂) 65 proc.). Toliau stebėta neigiama dinamika, didėjo CRB, atliktoje krūtinės ląstos rentgenogramoje ir krūtinės ląstos KT pokyčiai dešiniajame plautyje progresavo, „matinio stiklo“ zonos, konsolidacijos plotai tapo didesnės apimties bei intensyvumo (3, 4 pav.). Platintas antibakterinio

gydymo spektras, vėliau gavus bronchų išplovų pasėlio rezultatus (nustatytas augimas *Enterococcus faecium*, kuri jautri linezolidui), gydymas koreguotas pagal antibiotikogramos rezultatus. DTNK parametrai palaipsniui didinti iki pacientės toleruojamos 50 l/min. tėkmės ir 80 proc. FiO₂.

19 gydymo stacionare parą, pacientės būklei pagerėjus, oksigenoterapija pakeista į 15 l/min. papildomo deguonies per kaukę su rezervuaru, SpO₂ išliko tikslinis – 98 proc. Krūtinės ląstos rentgenogramoje pastebėta teigiama dinamika (5 pav.), toliau mažintas papildomo deguonies kiekis. Po 24 parų stacionarinio gydymo baigus antibakterinį gydymą bei išliekant minimaliam oksigenoterapijos poreikiui (1–2 l/min. per nosines kaniules), pacientė išrašyta į namus.

Pulmonologija ir alergologija

APTARIMAS

Pagrindinė DTNK indikacija yra hipokseminis normokapninis kvėpavimo nepakankamumas [3], tačiau šis metodas sėkmingai naudojamas ir esant hiperkapniam kvėpavimo nepakankamumui arba pratinant prie spontaninio kvėpavimo po ekstubacijos [2, 4].

Pacientai, kuriems taikoma DTNK, turi būti sąmoningi ir bendradarbiaujantys, palaikantys atvirus kvėpavimo takus, jiems neturi būti akivaizdaus ir ryšklaus respiracinio distreso [2, 3].

DTNK metu per nosies kaniules didele tėkme (30–80 l/min.) tiekiamas pašildytas ir sudrėkintas oksigenuotas oras. Tai išsaugo nepažeistą mukociliarinę funkciją. Sausos ir vėsios dujos tiekiamos tokiu greičiu greitai išdžiovinutų nosies gleivinę ir pacientui sukeltų nemalonius pojūčius [5]. DTNK paprastai toleruojama gana gerai, nes minkštos nosies kaniulės, t. y. ne taip kaip deguonies kaukė, netrukdo kalbėti ir valgyti [6].

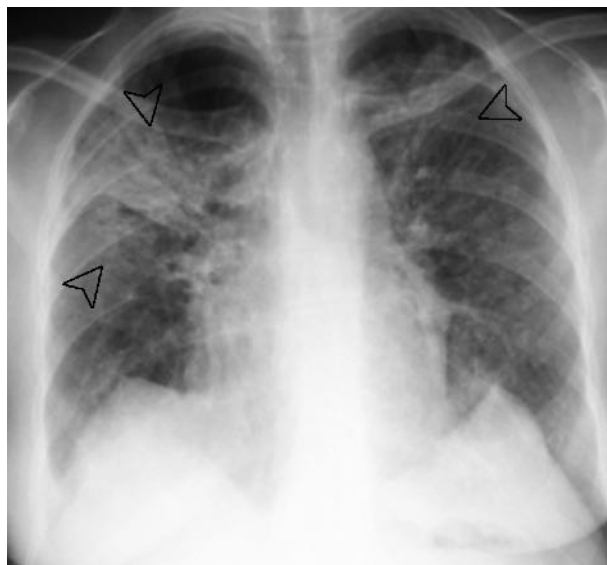
DTNK metu sumažinamas paciento kvėpavimo darbas, distresas, sumažėja dusulys ir kvėpavimo dažnis [3]. Didelė deguonies tėkmė DTNK metu gali sumažinti negyvą tarpą kvėpavimo takuose, sumažina pakartotinį CO₂ įkvėpimą bei pagerina ventiliacijos efektyvumą [2]. Dėl teigiamo slėgio DTNK metu gali padidėti funkcionuojančių alveolių tūris ir mažėja atelektazės (2), didinamas plaučių elastingumas [3].

Pagrindiniai DTNK nustatymai: tėkmė: 30–50 l/min.; temperatūra: 37 °C; 30–70 proc. FiO₂ [3]. DTNK patikimai užtikrina reikiamą deguonies frakciją įkvėpiamame ore, o tai gali būti sunkiai pasiekama naudojant įprastas deguonies terapijos priemones [2, 3].

Skiriant DTNK, būtina atidžiai stebėti paciento klinikinę būklę, siekiant laiku identifikuoti progresuojantį kvėpavimo funkcijos nepakankamumą ir užtikrinti savalaikę intubaciją [3]. Reikia atkreipti dėmesį ne tik į deguonies saturaciją, bet ir į kvėpavimo dažnį bei kvėpavimo darbą. Trinkant sąmonės būklei, atsirandant šokui, acidozei, ryškiam respiraciniam distresui, tikslinga intubacija ir dirbtinė plaučių ventiliacija [2].

IŠVADA

DTNK yra daugiau nei tik deguonies skyrimas – tai gerai toleruojamas ventiliacijai asistuojantis prietaisas,



5 pav. Krūtinės ląstos rentgenograma: 19 gydymo stacionare parą „matinio stiklo“ ir konsolidacijos (↗) plotų apimtis bei intensyvumas sumažėjo, dalis šių pokyčių išnyko

turintis fiziologinių privalumų, kuri saugu ir paprasta naudoti.

LITERATŪRA

1. Byambasuren O, Cardona M, Bell K, Clark J, McLaws M-L, Glasziou P. Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis. *Official Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada*. University of Toronto Press; 2020;5(4):223–34.
2. Suffredini DA, Allison MG. A Rationale for Use of High Flow Nasal Cannula for Select Patients With Suspected or Confirmed Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Infection. *Journal of Intensive Care Medicine*. SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA; 2021;36(1):9–17.
3. Jovaiša T, Macas A, Pilvinis V, Pranskūnas A, Šipylaitė J, Vosylius S et al. COVID-19 praktinės gydymo ir slaugos rekomendacijos intensyvios terapijos skyriuje. 2020.12.02.
4. Boccatonda A, Groff P. High-flow nasal cannula oxygenation utilization in respiratory failure. *European journal of internal medicine*. Elsevier; 2019;64:10–4.
5. Raoof S, Nava S, Carpati C, Hill NS. High flow, non-invasive ventilation and awake (non-intubation) proning in patients with COVID-19 with respiratory failure. *Chest*. 2020 Nov; 158(5): 1992–2002.
6. Spoletini G, Mega C, Khoja A, Alotaibi M, Blasi F, Nava S, et al. Better comfort and dyspnea scores with high-flow nasal cannula (HFNC) vs standard oxygen (SO) during breaks off noninvasive ventilation (NIV). *Eur Respiratory Soc*; 2015.

Priešvėžinės vakcinos: praeitis, dabartis ir ateitis

CANCER VACCINES: PAST, PRESENT AND FUTURE

JŪRATĖ STAIKŪNIENĖ

LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Santrauka. Navikai išvengia imuninės sistemos priežiūros dėl susidariusios imunosupresinės mikroaplinkos. Vėžio ląstelės išnaudoja imuninės kontrolės taškus ir palengvina savų ląstelių augimą bei dauginimąsi. Naujos įvairių lokalizacijų vėžio imunoterapijos strategijos, naudojant imuninės kontrolės inhibitorius prieš programuotos ląstelių žūties baltymą PD-1, jo ligandą PD-L1, su citotoksiniu T limfocitu susijusį antigeną 4 (CTLA-4) arba chimerinius T limfocitų receptorių (CAR-T), žymiai pagerino vėžio gydymo rezultatus. Deja, daugeliui pacientų reikalingos naujos imuninės sistemos aktyvinimo strategijos. Šioje apžvalgoje pateikiama priešvėžinių vakcinų ir galimų derinių su imunomoduliatoriais samprata.

Reikšminiai žodžiai: priešvėžinis imuninis atsakas, priešvėžinės vakcinos, imuninė kontrolė, imuninės kontrolės inhibitoriai.
Summary. Tumors evade the immune system through the establishment of an immune-suppressive tumor microenvironment. Immune checkpoint inhibition is leading to immune escape of cancer cells and their proliferation. New strategies which are represented by immune checkpoint inhibitors (e.g. programmed death 1 (PD-1), programmed death-ligand 1 (PD-L1), and cytotoxic T lymphocyte-associated antigen (CTLA-4) and chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy have shown remarkable efficacy in addressing various types of cancer. Unfortunately, an increasing number of studies have demonstrated the majority of patients do not respond to these immunotherapies. This review will give a perspective of potential combinatorial strategies with cancer vaccines that could unlock the power of vaccines in cancer.

Keywords: anti-cancer immune response, cancer vaccine, immune checkpoint, immune checkpoint inhibitors.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.708>

ĮVADAS

Pagrindinė vakcinos funkcija – sukelti įgytą imuninį atsaką antigenui arba antigenų rinkiniui, sužadinti antigeną pateikiančių ląstelių (APL), T limfocitų pagalbinių CD4+, citotoksinių CD8+ limfocitų aktyvumą ir antikūnų gamybą. Vakcinos nuo infekcinių ligų užtikrina apsaugą ir skiriamos prevencijai. Vakcinos veiksmingiausiai apsaugo nuo infekcijų, kurioms kontroliuoti humoralinis imuninis atsakas reikšmingiausias. Deja, nepasiektas vakcinacijos proveržis ligų, kurioms reikšmingas ląstelinis imuninis atsakas, tokių kaip, tuberkuliozės, žmogaus imunodeficito viruso (ŽIV) ir vėžio gydyme. Hepatito B viruso ir žmogaus papilomos viruso (ŽPV) vakcinos sukuria specifinį imunitetą ir gali apsaugoti nuo vėžio išsivystymo, tačiau jos netaikomos vėžiui gydyti. Priešvėžinės vakcinos skiriamos pasireiškiančios onkologinės ligos arba jos atkryčių gydymui [1].

Plaučių vėžys yra viena dažniausių onkologinių ligų. Mirštamumas nuo nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio mažėja dėl mažėjančio dažnio ir gerėjančio išgyvenamumo. Tyrimų duomenimis, Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) per pastaruosius penkerius metus nuo 2013 m. mirštamumas nuo nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio sumažėjo daugiau nei dažnis. Vyrų ser-

gamumas sumažėjo dukart – nuo 6,3 proc. 2013 m. iki 3,2 proc. 2016 m. Išgyvenamumas padidėjo nuo 26 proc. tiems, kuriems vėžys nustatytas 2001 m., iki 35 proc. tiems, kuriems vėžys nustatytas 2014 m. Ypač padidėjo moterų dvejų metų išgyvenamumas, nepriklausomai nuo rasės ir etninės grupės, atitinkamai nuo 35 proc. 2001 m. iki 44 proc. 2014 m. Šį pokytį galėjo sąlygoti mažėjantis rūkančiųjų skaičius, geresnė atanka ir pradėta taikyti taikinių terapija tirozino kinazės inhibitoriais bei imunoterapija [2]. Išaiškinus somatinių mutacijų dažnį ir atradus imuninės kontrolės taškus bei jų inhibitorius (angl. *checkpoint inhibitors*), pasikeitė ir ilgai vyravusi nuomonė, kad plaučių vėžys yra mažai imunogeniškas, vis plačiau pradėta taikyti vėžio imunoterapija.

IMUNINĖ KONTROLĖ IR JOS INHIBITORIAI

Fiziologinėmis sąlygomis yra reguliuojamasis imuninis atsakas į patogenus ir apsaugoma nuo autoimuninių ligų. Imuninės kontrolės molekulės (taškai) reguliuoja imuninių ląstelių aktyvumą, jas stimuliuodamos ir apsaugodamos organizmą nuo patogenų bei onkologinių ligų. Slopinant imunines ląsteles, sumažėja uždegimas, išlaikoma imuninė homeostazė ir nesukeliamas audinių pažeidimas. 2018 m. mokslininkai James P.

Pulmonologija ir alergologija

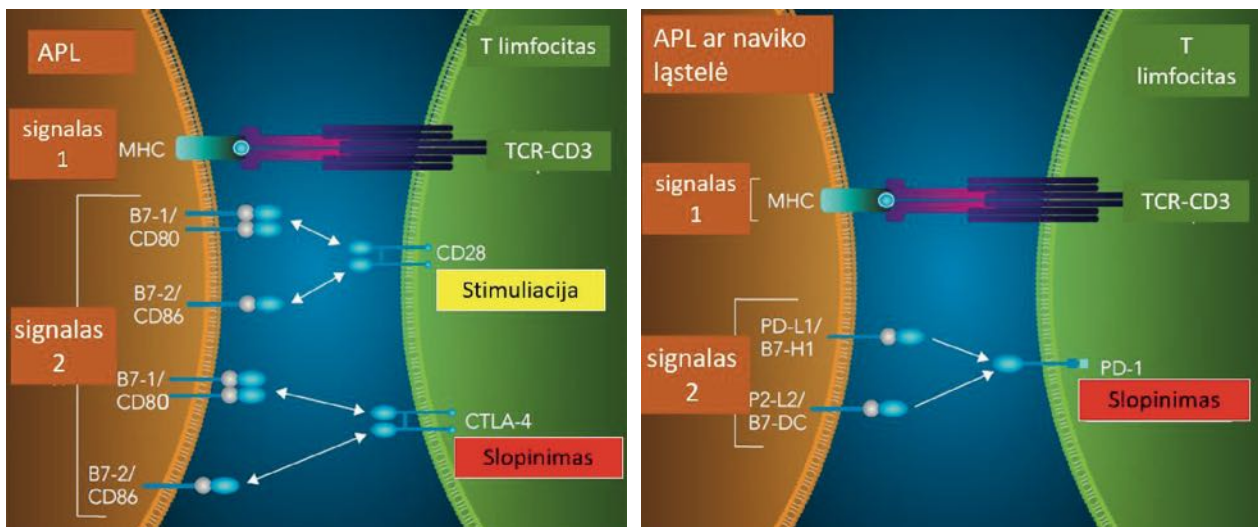
Allison ir Tasuku Honjo apdovanoti Nobelio premija fiziologijos srityje už imuninės kontrolės mechanizmų išaiškinimą, dėl to atsivėrė galimybės imuninės kontrolės inhibitoriams sukurti.

Navikai išvengia imuninės sistemos priežiūros dėl susidariusios imunosupresinės mikroaplinkos. Vėžio ląstelės išnaudoja imuninės kontrolės taškus ir palengvina vėžinių ląstelių augimą ir dauginimąsi. Vienas iš imuninės kontrolės taškų yra programuotos ląstelių žūties baltymas PD-1 (angl. *programmed cell death protein 1*, diferenciacijos žymuo CD279), esantis ant T ir pro-B ląstelių paviršiaus. PD-1 keliu yra slopinama T ląstelių veikla. PD-1 jungiasi su dviem ligandais: PD-1 ligandas 1 (PD-L1)/B7-H1 ir PD-1 ligandas 2 (PD-L2)/B7-DC. Šiuos ligandus turi antigeną pateikiančios ląstelės, ligandų kiekį padidina gama interferonas, išsiskiriantis uždegimo metu. PD-1 ligandų gali turėti įvairios vėžinės ląstelės. Dėl sąveikos PD-1:PD-L1 ir PD-1:PD-L2 slopinamas interleukino 2 (IL-2) išsiskyrimas, o tai sąlygoja T limfocitų proliferacijos, jų efektorinės funkcijos slopinimą. Dėl T limfocitų anergijos vėžinės ląstelės nesunaikinamos. Kuo daugiau PD-L2 molekulių ant vėžinių ląstelių, tuo blogesnė ligos prognozė. Ir atvirkščiai, priešvėžinis imuninis atsakas padidėja su monokloniniais antikūnais blokuojant PD-1 ir PD-L1 molekules [3].

Kitas imuninės kontrolės taškas, kurį vėžinės ląstelės naudoja siekdamos slopinti citotoksinių T limfocitų atsaką yra su citotoksiniu T limfocitu susijęs antigenas 4 (CTLA-4 molekulė, diferenciacijos žymuo CD152). Imuninio atsako metu T limfocitui suaktyvinti reikia dviejų signalų. Pirmas signalas gaunamas, kai T limfocito receptoriaus ir CD3 molekulės kompleksas (TCR-CD3) susijungia su didžiojo audinių dermės kompleksu (MHC) ir antigeninio peptido junginiu. Antras pagalbinis T limfocito stimuliacijos signalas

įvyksta, kai T limfocito paviršiaus CD28 žymenį turinčios molekulės sąveikauja su antigeną pateikiančios ląstelės (APL) B7 šeimos baltymais (1 pav.) [4]. CTLA-4 molekulė konkuruoja su CD28 molekule jungiantis su antigeną pateikiančios ląstelės B7 molekulės ligandais. Susijungus CD28 molekulei su B7-1/CD80 ir B7-2/CD86 molekulėmis ant APL paviršiaus, T limfocitas suaktyvinamas. Po aktyvinimo daugiau CTLA-4 molekulių pasirodo T limfocito paviršiuje, kurios su stipresniu afinitetu jungiasi su B7-1/CD80 ir B7-2/CD86 molekulėmis ant APL paviršiaus, dėl to T limfocito veikla nuslopinama. Sergant vėžiu, su naviku susijusių makrofagų paviršiaus B7-1/CD80 ir B7-2/CD86 molekulės slopina T limfocitų veiklą. Vėžinių ląstelių paviršiaus B7 šeimos ir CTLA-4 molekulės taip pat slopina efektorinę T limfocitų funkciją ir skatina jų apoptozę. Dėl T limfocitų sutrikusios funkcijos vėžinės ląstelės neeliminuojamos ir proliferuoja. CTLA-4 glikoproteinas yra ant CD4+, CD8+, T reguliuojamųjų limfocitų Treg, ląstelių žudikių (angl. *natural killer*, NK) ląstelių su diferenciacijos žymeniu CD56, paviršiaus ir slopina šių ląstelių funkcijas [5–7].

2011 m. JAV patvirtintas pirmasis monokloninis antikūnas prieš citotoksinio T limfocito molekulę CTLA-4 – ipilimumabas. Netrukus sukurti antikūnai prieš PD-1 (nivolumabas, pembrolizumabas) ir jo ligandą PD-L1 (atezolizumabas, avelumabas, durvalumabas). Antikūnai prieš CTLA-4 ir PD-1/PD-L1 panaikina slopinamąjį poveikį citotoksiniams CD8+ T limfocitams ir NK ląstelėms, T ir NK ląstelės geba atpažinti vėžines ląsteles. Šis poveikis vadinamas „imuninės kontrolės slopinimas“, o monokloniniai antikūnai – imuninės kontrolės inhibitoriais. Antikūnai prieš CTLA-4 pašalina imunosupresiją naviko mikroaplinkoje, nes stimuliuoja CD4+ T limfocitus ir IL-2 gamybą, aktyvina NK, padidina jų paviršiuje



1 pav. Imuninė sinapsė ir jos blokavimas (modifikuota pagal Foundations of Immuno-oncology, ebook, 2020) [4]

APL – antigeną pateikianti ląstelė; TCR-CD3 – T limfocito receptoriaus ir CD3 kompleksas.

IL-2 receptoriaus raišką, tumoro nekrozės faktoriaus α (angl. *tumor necrosis factor- α* , TNF α) gamybą ir NK ląstelių citotoksiinį poveikį naviko ląstelėms [7]. Klinikinių tyrimų duomenimis, sėkmė stebima imuninės kontrolės inhibitoriais gydant melanomą ir nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžį, šlapimo pūslės vėžį, pasiektas minimalus atsakas į gydymą sergant kasos, storosios žarnos, prostatos vėžiu [8].

PRIŠVĖŽINIŲ VAKCINŲ SAMPRATA IR IMUNOTERAPIJOS GALIMYBĖS

Naviko mikroaplinkoje imuninis atsakas yra neefektyvus dėl silpno antigenų pateikimo, imuninės kontrolės ir imunosupresijos. Naviko ląstelės turi mažai antigenų, I klasės MHC, pagalbinių stimuliacijos CD80, CD86 molekulių. Naviko ląstelės ir fibroblastai išskiria chemokinus, kurie slopina T limfocitus, pritraukia mieloidines ląsteles-supresorius (MDSC). Mieloidinės ląstelės sukelia imuninio atsako supresiją, slopindamos T limfocitų proliferaciją, sunaudodamos amino rūgštis, gamindamos laisvuosius deguonies radikalus ROR ir suaktyvindamos reguliuojamuosius T limfocitus (CD4+Foxp3+), kurie dar stipriau slopina imuninį atsaką. Daugėjant žinių apie priešvėžinio imuninio atsako ląstelinius ir humoralinius mechanizmus, pradėtos kurti vėžio vakcinos. Pagrindinė vėžio vakcinos funkcija – sužadinti imuninį atsaką vėžio antigenui arba antigenų rinkiniui, suaktyvinti limfocitus, dendritines ir kitas ląsteles. Vakcinos gali būti sisteminės arba vietinės (dar vadinamos *in situ*). *In situ* vakcinos suleidžiamos tiesiogiai į vėžio aplinką ir taikomos pasiekiamų lokalizacijų navikams: melanomai, limfomai, galvos–kaklo karcinomai gydyti. Kad vakcinacija būtų sėkminga, reikia optimizuoti T limfocitų atsaką, t. y. pasiekti reikiamą amplitudę, specifiškumą, pirmo tipo T limfocitų pagalbininkų (Th1) atsako profilį ir užtikrinti, kad T limfocitai pasieks naviko vietą bei vykdys funkcijas. Silpnos navikinių ląstelių antigeninės savybės ir imuninio atsako slopinimas vėžio aplinkoje yra pagrindinės nesėkmingos vėžio imunoterapijos priežastys [1, 9].

Naviko antigenai skirstomi į dvi rūšis: „savus“ ir „nesavus“ antigenus. Savi antigenai yra nustatomi ir normaliose, ir vėžinėse ląstelėse. Vėžinės ląstelės gali turėti didelį kiekį „savų“ antigenų, kurie yra nustatomi tik vaisiaus ląstelėse ir labai mažą jų kiekį turi normalūs suaugusiojo audiniai, arba kurie yra ekspresuojami normalių ląstelių diferenciacijos stadijoje. Tokia epigenetinė antigeno raiška randama tik 2–3 proc. vėžio atvejų. „Nesavi“ antigenai yra „neoantigenai“, kurie susidaro naviko vystymosi metu dėl mutacijų, yra viruso genų produktai, jų neturi sveikos ląstelės. Šie navikui specifiški antigenų epitopai yra saugūs ir veiksmingas imunoterapijos taikiny. Pradžioje imuniniam atsakui sukelti vartotos vakcinos iš autologinių naviko ląstelių

lizatų, apšvitintų naviko ląstelių arba alogeninių naviko ląstelių linijų, sujungtų su dendritinėmis ląstelėmis (DL). Šis vakcinacijos metodas buvo nestandartizuotas ir nereglementuotas, ekspresuodavo ne visada svarbiausius naviko genus ir jų produktus, buvo nukreiptos ir prieš savus antigenus [9, 10].

Kitas vėžio imunoterapijos taikiny yra intensyviai ekspresuojami „savi“ antigenai vėžio ląstelėse, pavyzdžiui, karcinoembrioninis antigenas. Taikant imunoterapiją adaptacinėmis T ląstelėmis su didelio avidiškumo TCR receptoriumi karcinoembrioniniam antigenui, nepavyko sumažinti naviko dydžio ir šis gydymas pažeidė storosios žarnos gleivinę. Taigi, antigenai, kurių mažas kiekis randamas normaliose ląstelėse, yra netinkamas taikiny kuriant vėžio vakcinas [1, 11]. Ilgainiui sukurtos vakcinos prieš naviko diferenciacijos antigenus (Melan A, gp100, tirozinazė), vėžio antigenus (MAGE, LAGE, XAGE, NY-ESO1) arba virusinės klimės antigenus (ŽPV, Epštein Baro virusas). Profilaktinė vakcinacija prieš virusų baltymus ir peptidus, pvz., ŽPV vakcina veiksmingai apsaugo nuo šio viruso sukkelto vėžio ir gali sustabdyti ikivėžinius gimdos kaklelio pokyčius. Tačiau metastazavusio gimdos kaklelio vėžio imunoterapijai naudojant autologinius naviką infiltruojamuosius T limfocitus, dauguma jų nereagavo į ŽPV antigenus. Atliekant klinikinius imunoterapijos su autologinėmis adaptacinėmis T ląstelėmis, kurių TCR receptorius genetiškai modifikuotas geba atpažinti vėžio ląstelių MAGE-A3 antigeną, melanomos diferenciacijos antigeną MART-1 tyrimus, pastebėtas naviko regresavimas kartu ir didelis toksinis poveikis, nes tas pats baltymas randamas svarbiuose normaliuose audiniuose, kurie sužalojami [11, 12].

Vėžio vakcinų gamyboje pradėti vartoti mutanomo kilmės epitopai–neoepitopai susidarę dėl mutacijų. Iš mutanomo kilusi iRNR vakcina yra individuali pacientui, jai pagaminti reikia 100 dienų. Šiandien kuriant imunoterapines vėžio vakcinas, pasitelkiami šiuolaikiniai naviko egzomo sekvenavimo metodai (angl. *whole-exome sequencing*, WES). Galima nustatyti, kurios T ląstelės reaguos į vėžio neoepitopus, susijungusius su I ir II klasės MHC molekulėmis, ir kurios sąlygos imuninį atsaką prieš naviką. Klinikinėje praktikoje yra sėkmingų bandymų gydyti melanomos metastazes naudojant autologinių naviką infiltruojamųjų T limfocitų, kurie reaguoja į dešimtį melanomos neoantigenų, transfuzijas [13]. Yra duomenų, kad kuo didesnis naviko mutacijų ir neoantigenų skaičius, tuo veiksmingesnė imunoterapija imuninės kontrolės inhibitoriais.

Melanomos ir nesmulkiųjų ląstelių vėžio ląstelės turi daugiau mutacijų ir neoantigenų nei kiti epiteliniai navikai. Dėl mažesnio epitelinių navikų mutacijų skaičiaus susiformuoja mažiau CD4+ ir CD8+ T reaktyviųjų ląstelių, dėl to imunoterapijos atsakas yra silpnesnis. Storosios žarnos naviko KRAS „driver“

Pulmonologija ir alergologija

mutacijų koduojamus neoantigenus, sujungtus su HLA-C0*8:02 molekule, gali atpažinti CD8+ T limfocitai ir sunaikinti vėžio metastazes plaučiuose. Tai tik patvirtina hipotezę, kad galima suaktyvinti imuninį atsaką į naviko neoantigenus, naudojant į neoantigenus reaguojamuosius autologinius CD4+ ir CD8+ T limfocitus iš naviko aplinkos ir derinyje su imuninės kontrolės inhibitoriais pasiekti vėžio regresavimą [1, 14]. Deja, daugelio kitų „driver“ mutacijų koduojamų neoantigenų T limfocitai negali atpažinti, nes šie neoantigenai nesujungti su MHC molekulėmis, dėl to navikas išvengia imuninio atsako ir imunoterapija nėra sėkminga.

Vėžio antigenai yra mažo imunogeniškumo dėl didelio panašumo į savus ląstelių antigenus, todėl vėžio vakcinos optimizavimui gali būti vartojami adjuvantai. Pastarieji yra įgimto imuniteto Toll like receptorių (TLR) stimulatoriai, antigeno depozitų ir pernašos sistemos (virosomos, mikrosomos, mikrosferos). Dažniausiai vartojami adjuvantai yra monofosforilipidas A (MPL), aliuminio hidroksidas, saponinai, STING agonistai, interleukinai IL-2, IL-12, interferonas γ (IFN γ), granulocitų–makrofagų kolonijas stimuliuojamasis faktorius (GM-CSF), karščio šoko baltymas. Spinduline terapija ir chemoterapija siekiama sukelti naviko ląstelių žūtį ir taip suaktyvinti DL. Spindulinė terapija sustiprina atsaką į vakciną, nes padidina MHC molekulių raišką naviko ląstelėse, DL ligandų raišką ir dar labiau suaktyvina DL. Siekiant padidinti adaptacinių navikų infiltruojamųjų T limfocitų, kurie reaguoja su neoepitopais transfuzijų veiksmingumą, papildomai skiriami imunomodulatoriai – imuninės kontrolės inhibitoriai, antikūnai – agonistai, kurie stimuliuoja T limfocito pagalbinės stimuliacijos molekules, neoepitopų vakcinos [1, 9].

Imunoterapijos sėkmė priklauso ne tik nuo naviko antigenų atpažinimo, bet ir nuo to, kaip šie antigenai bus sujungti su I arba II klasės MHC molekulėmis, nes tik tada T limfocitai juos atpažins ir sunaikins. Navikinė ląstelė praranda gebėjimą savo paviršiuje ekspresuoti I klasės MHC molekules arba beta-2 mikroglobuliną ir taip išvengia imuninės priežiūros [15]. T limfocitas, turintis chimerinį antigeno receptorių (angl. *chimeric antigen receptor*, CAR), geba atpažinti naviko antigenus nepriklausomai nuo MHC molekulių būdu. CAR T limfocitų terapija yra imunoterapijos būdas, kai paciento T limfocitai laboratorijoje genetiškai modifikuojami ekspresuoti CAR ir grąžinami į organizmą. CAR susideda iš antigeno, sujungiančio domeno vienos grandinės Fv ir signalą priimančio CD3 domeno, sujungtų su pagalbine stimuliacijos molekule, pavyzdžiui, CD28 ar 4-1 BB (9). CAR T limfocitų, kurie atpažįsta ir jungiasi su B limfocito CD19 žymeniu, terapija sėkmingai naudojama B ląstelių limfomai, leukemijai gydyti. CAR T terapija

pradedama taikyti storosios žarnos navikams gydyti. Vienas iš CAR T limfocitų terapijos iššūkių yra tas, kad epitelinis navikas turi ekspresuoti antigenus [16].

IŠVADOS

Silpnos navikinių ląstelių antigeninės savybės ir imuninio atsako slopinimas vėžio aplinkoje yra pagrindinės nesėkmingos vėžio imunoterapijos priežastys. Kuriant priešvėžines vakcinas, ieškoma imunogeniškų vėžio antigenų, jų pernašos sistemų; ląsteliniam imuniniam atsakui stiprinti pridedami adjuvantai. Siekiant išvengti imuninės kontrolės vėžio aplinkoje, padidinti atsaką į gydymą, vakcinos sėkmingai derinamos su imuninės kontrolės inhibitoriais – antikūnais prieš CTLA-4, programuotos ląstelių žūties proteiną 1 (PD-1) ir jo ligandą 1 (PD-L1) bei CAR T limfocitų terapija.

LITERATŪRA

1. **Vermaelen K.** Vaccine Strategies to Improve Anti-cancer Cellular Immune Responses. *Front Immunol.* 2019;10:8.
2. **Howlader N, Forjaz G, Mooradian MJ, Meza R, Yin Kong C, Cronin KA, et al.** The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. *N Engl J Med.* 2020;383:640–9.
3. **Boussiotis VA.** Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway. *N Eng J Med.* 2016;375:1767–78.
4. **Foundations of Immuno-oncology, 2020.** Internetinė prieiga: <https://www.bio-techne.com/resources/ebook/immuno-oncology> (žiūrėta 2021 03 21).
5. **Contardi E, Palmisano GL, Tazzari PL, Martelli AM, Falà F, Fabbì M, et al.** CTLA-4 is constitutively expressed on tumor cells and can trigger apoptosis upon ligand interaction. *Int J Cancer.* 2005;117(4):538–50.
6. **Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al.** Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med.* 2002;8(8):793–800.
7. **Khan M, Arooj S, Wang H.** NK Cell-Based Immune Checkpoint Inhibition. *Front Immunol.* 2020;11:167.
8. **Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD.** Immune-related adverse events associated with immune checkpoint blockade. *N Eng J Med.* 2018;378:158–68.
9. **Dougan M, Dranoff G, Dougan SK.** Cancer immunotherapy: beyond checkpoint blockade. *Annu Rev Cancer Biol.* 2019;3:55–75.
10. **Wong KK, Li WA, Mooney DJ, Dranoff G.** Advances in therapeutic cancer vaccines. *Adv Immunol.* 2016;130:191–249.
11. **Tran E, Robbins PF, Rosenberg SA.** Final common pathway of human cancer immunotherapy: targeting random somatic mutations. *Nat Immunol.* 2017;18(3):255–62.
12. **Melief CJM, van Hall T, Arens R, Ossendorp F, van der Burg SH.** Therapeutic cancer vaccines. *J Clin Invest.* 2015;125:3401–12.
13. **Prickett TD, Crystal JS, Cohen CJ, Pasetto A, Parkhurst MR, Gartner JJ, et al.** Durable Complete Response from Metastatic Melanoma after Transfer of Autologous T Cells Recognizing 10 Mutated Tumor Antigens. *Cancer Immunol Res.* 2016;4(8):669–78.
14. **Chiarella P, Vermeulen M, Montagna DR, Vallecorsa P, Strazza AR, Meiss RP, et al.** Improvement of Antitumor Therapies Based on Vaccines and Immune-Checkpoint Inhibitors by Counteracting Tumor-Immunostimulation. *Front Oncol.* 2018;8:6.
15. **Sade-Feldman M, Jiao YJ, Chen JH, Rooney MS, Barzily-Rokni M, Eliane JB, et al.** Resistance to checkpoint blockade therapy through inactivation of antigen presentation. *Nat Commun.* 2017;8:1136.
16. **Sur D, Havasi A, Cainap C, Samasca G, Burz C, Balacescu O, et al.** Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Colorectal Cancer. *J Clin Med.* 2020;9(1):182.

Daugiau nei dilgėlinė: Šnicler sindromas

SCHNITZLER SYNDROME: MORE THAN CHRONIC URTICARIA

EGLĖ ŽILĖNAITĖ^{1,2}, ANŽELIKA CHOMIČIENĖ^{1,2}, RAMINTA ŠULSKIENĖ³

¹VU MF Klinikinės medicinos instituto Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika,

²Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Pulmonologijos ir alergologijos centras,

³Respublikinė Klaipėdos ligoninė

Santrauka. Šnicler sindromas – tai retas įgytas autouždegiminis sindromas, kuriam būdinga: dilgėlinis išbėrimas, karščiavimas, kaulų ir sąnarių skausmas, limfadenopatija. Tyrimais nustatoma monokloninė gamapatija ir padidėję uždegiminiai rodikliai. Liga dažniausiai prasideda šeštajame gyvenimo dešimtmetyje ir ja dažniau serga vyrai. Sindromas diagnozuojamas pagal Strasbourg diagnostinius kriterijus, paneigus galimas diferencines diagnozes. Liga tęsiasi visą gyvenimą. Apie 15–20 proc. pacientų išsivysto limfoproliferacinė liga, retais atvejais – AA amiloidozė. Veiksmingiausias gydymas – interleukino (IL) 1 antagonistai. Straipsnyje apžvelgiama Šnicler sindromo patogenezė, klinika, diagnostika ir gydymas, pateikiami klinikiniai atvejai.

Reikšminiai žodžiai: Šnicler sindromas, autouždegiminės ligos, anakinra, dilgėlinė.

Summary. Schnitzler syndrome is a rare acquired autoinflammatory disorder characterized by urticarial rash, fever, bone and joint pain, and lymphadenopathy. It is associated with monoclonal gammopathy and increased inflammatory parameters. The disease usually begins in the late 50s and is more common in men. The syndrome is diagnosed according to Strasbourg diagnostic criteria after excluding possible differential diagnoses. The disease lasts a lifetime. About 15–20% of patients develop lymphoproliferative disease and, in rare cases, AA amyloidosis. The most effective treatment is interleukin (IL) 1 antagonist. The article reviews the pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and treatment of Schnitzler syndrome and presents clinical cases.

Keywords: Schnitzler syndrome, autoinflammatory disorder, anakinra, urticarial rash.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.709>

IVADAS

Šnicler (Schnitzler) sindromas – tai retas įgytas autouždegiminių ligų grupei priskiriamas sindromas, pasiėškiantis dilgėliniu išbėrimu, karščiavimu, kaulų ir (ar) sąnarių skausmu, limfadenopatija. Tyrimais nustatoma monokloninė gamapatija (dažniausiai imunoglobulino (Ig) M, rečiau IgG) ir padidėję uždegiminiai rodikliai. Pirmą kartą šį sindromą 1972 m. aprašė prancūzų dermatologė Liliane Schnitzler. Nuo to laiko literatūroje aprašyta apie 300 atvejų visame pasaulyje (daugiausia Europoje). Liga dažniausiai prasideda šeštajame gyvenimo dešimtmetyje (vidutiniškai 51,6 metų) ir ja šiek tiek dažniau serga vyrai (vyrų ir moterų santykis 1,76) [1]. Nėra biologinių žymenų, patvirtinančių šį susirgimą, todėl Šnicler sindromo diagnostika remiasi klinikinių, laboratorinių bei instrumentinių rodiklių atitikimu pagal Strasbourg diagnostinius kriterijus ir galimų diferencinių diagnozių paneigimu. Liga tęsiasi visą gyvenimą, spontinės remisijos retos. Apie 15–20 proc. pacientų išsivysto limfoproliferacinė liga [2], retais atvejais (negydytiems pacientams) – AA amiloidozė. Veiksmingiausias gydymas – interleukino (IL) 1 antagonistai.

PATOGENEZĖ

Tiksliai Šnicler sindromo patogenezė nežinoma. Liga priskiriama įgytiems autouždegiminiams sindromams

ir klinikiniu bei biologiniu požiūriu, atsaku į gydymą yra panaši į įgimtus autouždegiminius sindromus (pvz., su kriopirinu susijęs periodinis sindromas, KSPS). Autouždegiminės ligos – tai ligos, sukeltos įgimtų imuninės sistemos defektų arba funkcijos sutrikimų, kuriems būdingas pasikartojantis arba nuolatinis uždegimas (padidėję uždegiminiai rodikliai) [3]. Įgytos imuninės sistemos sutrikimai (autoreaktyvūs T limfocitai, autoantikūnai) šių ligų pradinėje patogenezėje pagal apibrėžimą nedalyvauja [3]. KSPS, turintys daug panašumų su Šnicler sindromu, yra sukelti NLRP3 geno aktyvinamosios mutacijos, tačiau Šnicler sindromo atveju ši arba kita ligą lemianti mutacija nustatyta nebuvo [4].

Stimuliuojant sergančių pacientų periferinio kraujo mononukleorus, buvo nustatyta padidėjusi IL-6, IL-1β, IL-1α, navikų nekrozės faktorius α (TNFα), IL-1 receptoriaus antagonisto sekrecija [4]. To paties *in vitro* tyrimo metu rastas sumažėjęs T limfocitų pagalbininkų (Th) 1, Th2 ir Th17 funkcionalumas [4]. Taip pat pastebėta, kad IL-6 koncentracija koreliuoja su ligos aktyvumu [5]. Manoma, kad pirminis IL-1β šaltinis yra odos putliosios ląstelės [6], o vėliau į uždegimo židinį yra pritraukiami neutrofilai, kurių reikšmė patogenezėje nėra pakankamai iširta. Neseniai atlikto tyrimo metu buvo nustatyta, kad sergančiųjų Šnicler sindro-

Pulmonologija ir alergologija

mu pacientų kraujo ir odos neutrofilai pasižymėjo intensyvesniu neutrofilų ekstraląstelių spąstų (NES) formavimu, lyginant su sveikais žmonėmis arba lėtine spontanine dilgėline sergančiais pacientais [7]. Be to, padidėjęs NES formavimas koreliavo su C reaktyviojo baltymo (CRB) koncentracija [7]. NES – tai voratinklinė struktūra, sudaryta iš dekondensuoto chromatino, histonų ir antimikrobinių peptidų [8]. NES dalyvauja odos uždegiminiuose procesuose sergant sistetine raudonąja vilklige, psoriaze [9, 10], reguliuoja IL-1 β medijuojamą sisteminių uždegimą sergant šeimine Viduržemio jūros karštligė, kuri priskiriama įgimtoms autouždegiminėms ligoms [11].

IgM paraproteino reikšmė Šnicler sindromo patogenezėje neaiški. Nežinoma, ar paraproteino atsiradimas yra ligos proceso priežastis ar pasekmė. Apie trečdaliui pacientų aptinkama MYD88 mutacija [12]. Ši mutacija nustatoma didžiąjai daliai Waldenstromo makroglobulinemija sergančių pacientų ir yra susijusi su limfoidinio piktybiškumo išsivystymu [13]. MYD88 taip pat dalyvauja IL-1 receptoriaus aktyvacijoje, todėl manoma, kad bent daliai Šnicler sindromu sergančiųjų ši mutacija gali būti reikšminga ligos patogenezėje [13].

KLINIKINIAI SIMPTOMAI, LABORATORINIAI IR INSTRUMENTINIAI LIGOS RODIKLIAI

Visi pacientai, sergantys Šnicler sindromu, skundžiasi pasikartojančiu dilgėlinės tipo išbėrimu. Daugumai pacientų taip pat pasireiškia febrilus karščiavimas, kaulų arba sąnarių skausmas. Galimi ir kiti nespecifiniai požymiai: galvos skausmas, bendras silpnumas, nuovargis. Daliai pacientų nustatoma limfadenopatija, hepatosplenomegalija. Laboratoriniuose tyrimuose randama monokloninė gamapatija, padidėję uždegiminiai rodikliai. Klinikinių simptomų ir laboratorinių požymių dažnis pateikiamas 1 lentelėje.

1 lentelė. Klinikinių ir laboratorinių požymių dažnis pacientams, sergantiems Šnicler sindromu [1, 21]

Požymis	Dažnis (proc.)
Urtikarinė egzantema	100
Padidėję uždegiminiai rodikliai (CRB, Neu, IL-6, IL-18)	95
Karščiavimas >38 °C	93
Monokloninė gamapatija	89
κ lengvosios grandinės	89
Sąnarių skausmas	77
Leukocitozė ($\geq 10\,000$)	76
Kaulų skausmas	68
Kaulų struktūros pokyčiai	62
Limfadenopatija	47
Hepato/splenomegalija	34

CRB – C reaktyvusis baltymas; IL – interleukinas; Neu – neutrofilai.

Urtikarinė egzantema

Dažniausiai tai pirmasis ligos požymis. Pagal diagnostinius kriterijus odos išbėrimas kartu su monoklonine gamapatija yra pagrindiniai kriterijai ir pasireiškia visiems pacientams. Nors išbėrimas apibrėžiamas kaip dilgėlinė, nuo tipinės dilgėlinės jis šiek tiek skiriasi. Įprastai beria liemenį raudonos ar rožinės spalvos nedaug pakilusiomis dėmėmis, kurios niežti nedaug arba visai neniežti (1, 2 pav.) [2]. Išbėrimas galūnėse ir veido srityje retas, angioedemos epizodai išimtinai reti.



1 pav. Urtikarinė egzantema (A. Chomičienės nuotrauka).



2 pav. Urtikarinė egzantema (A. Chomičienės nuotrauka).

Atskiri odos išbėrimo elementai yra laikini ir išnyksta per 24–48 val. [2]. Odos išbėrimas neturi ryšio su karščiavimu arba paros ritmu. Išbėrimų trukmė įvairi kiekvienam pacientui, tačiau negydant laikotarpiai be išbėrimo retai būna ilgesni nei 1 mėn. [2].

Atlikus odos biopsiją iš neseniai atsiradusio išbėrimo elemento histologiškai nustatoma neutrofilų infiltracija odoje (dermoje). Šnicler sindromas priskiriamas neutrofilinėms urtikarinėms dermatozėms, kurioms būdinga įvairaus tankio intersticinė ir perivaskulinė neutrofilų infiltracija odoje (dermoje) ir leukocitoklazija, tačiau nėra odos vaskulito požymių (nėra kraujagyslių sienelės fibrinoidinės nekrozės, dermos edemos, eritrocitų ekstravazacijos) [14]. Epidermis dažniausiai būna nepažeistas. Iki 20 proc. pacientų buvo nustatytas vaskulitas [15], tačiau pakartotinai peržiūrėjus dalies tokių pacientų odos biopsijos vaizdus nerasta kraujagyslių sienelės fibrinoidinės nekrozės, todėl manoma, kad vaskulitinis odos pažeidimas yra retesnis [2].

Karščiavimas

Beveik visi pacientai skundžiasi pasikartojančiu febriliu karščiavimu, temperatūra gali pakilti iki 40°C. Karščiavimas įprastai yra gerai toleruojamas, šaltkrėtis pasitaiko retai [2]. Kūno temperatūros pakilimo epizodai daliai pacientų gali būti kontroliuojami vartojant nesteroidinius vaistus nuo uždegimo (NVNU) arba gliukokortikoidus (GKK), geras atsakas į gydymą IL-1 antagonistais [16].

Raumenų ir kaulų sistema

Iki 80 proc. pacientų skundžiasi kaulų arba retesniais atvejais – sąnarių skausmu [2]. Dažniausiai pasireiškia klubakaulio ir blauzdikaulio, rečiau stuburo, šlaunikaulio, žasto ir raktikaulio skausmas [2, 17]. Kaulų destruktijos arba deformacijos šiems pacientams nebuvo nustatyta. Tiksliausias tyrimas kaulų pažeidimui nustatyti – kaulų scintigrafija. 2020 m. publikuoto tyrimo duomenimis, iki 68 proc. pacientų buvo nustatytas padidėjęs radioindikatoriaus kaupimas (dažniausiai ilguosiuose kauluose – šlaunikaulyje ir blauzdikaulyje) [18]. Autoriai taip pastebėjo koreliaciją tarp kaulų pažeidimo ir ligos aktyvumo. Magnetinio rezonanso tyrimas taip pat gali būti informatyvus kaulų pažeidimo diagnostikoje [19].

Organomegalija

Palpuojami limfmazgiai nustatomi iki 45 proc., kepenų arba blužnies padidėjimas – iki 30 proc. pacientų [16, 20]. Limfmazgiai dažniausiai padidėja pažastų ir kirkšnių srityse ir būna apie 2–3 cm dydžio. Limfmazgių biopsijoje randamas nespecifinis uždegimas [2].

Monokloninė gamapatija

Monokloninė IgM gamapatija (dažniausiai k lengvųjų grandžių) nustatoma iki 90 proc. pacientų, kitais

atvejais (iki 10 proc.) randamas IgG monoklonas [21]. IgM koncentracija diagnozės nustatymo metu įprastai būna nedaug padidėjusi, bet per metus gali kilti po 0,5–1 g/l [21]. Esant IgM koncentracijai daugiau nei 10 g/l, reikėtų įtarti Waldenstromo makroglobulinemiją [5].

Iki 30 proc. pacientų randama Bence Jones proteinurija šlapime, ketvirtadaliui gali būti nustatoma sumažėjusi IgA ar IgG koncentracija [16, 21]. Šnicler sindromo diagnozės nustatymo metu pokyčių kaulų čiulpuose dažniausiai nerandama, 20 proc. pacientų randama nespecifinių polikloninių limfocitinių arba plazmocitinių infiltratų [21].

Kiti laboratorinių rodiklių pokyčiai

Pacientams nustatomi padidėję uždegiminiai rodikliai (CRB, eritrocitų nusėdimo greitis (ENG), IL-6, IL-18), neutrofilinė leukocitozė (neutrofilų absoliutus skaičius viršija $10 \times 10^9/l$). Komplemento sistemos tyrimai būna normos ribose arba padidėję (aprašyti keli asocijuoto C4 deficito atvejai [22]). Iki pusės pacientų randama uždegiminė anemija, rečiau trombocitozė [21].

Ligos eiga ir prognozė

Liga tęsiasi visą gyvenimą, spontaniškos remisijos retos. Šnicler sindromo prognozė priklauso nuo limfoproliferacinio ligos išsivystymo. Limfoproliferacinės ligos rizika siekia 15–20 proc. [1, 20]. Specifinių prognoztinių veiksnių, įvertinančių hematologinės ligos riziką, nėra. Pacientų, kuriems nepasireiškė hematologinė liga, gyvenimo trukmė nesiskiria nuo bendrosios populiacijos [23]. Aprašyti AA amiloidozės atvejai, susiję su persistuojančiu uždegimu [20].

DIAGNOSTIKA IR DIFERENCINĖ DIAGNOSTIKA

Šnicler sindromo diagnostika remiasi diagnostiniais Strasbourg kriterijų atitikimu (2 lentelė), kurie apima

2 lentelė. Strasbourg diagnostiniai kriterijai (1)

Didieji kriterijai	Lėtinė urtikarinė egzantema
	IgM ar IgG monoklonas
Mažieji kriterijai	Pasikartojantis karščiavimas $>38^\circ\text{C}$ be kitos paaiškinamos priežasties
	Objektyvūs kaulų struktūros pokyčiai su (ar be) kaulų skausmu (nustatyti atlikus kaulų scintigrafiją, MRT arba radus padidėjusią kaulų ŠF koncentraciją)
	Neutrofilinė urtikarinė dermatozė odos biopsijoje (nėra fibrinoidinės nekrozės ir žymios dermos edemos)
	Leukocitozė ($\text{Neu} > 10\,000/\text{mm}^3$) ir (ar) padidėjusi CRB koncentracija ($>30\text{ mg/l}$)
Aiški diagnozė	Abu didieji kriterijai ir bent du mažieji kriterijai, esant IgM monoklonui, arba bent trys mažieji kriterijai, esant IgG monoklonui
Tikėtina diagnozė	Abu didieji kriterijai ir bent vienas mažasis kriterijus, esant IgM monoklonui, arba bent du mažieji kriterijai, esant IgG monoklonui

CRB – C reaktyvinis baltymas; Ig – imunoglobulinas; MRT – magnetinio rezonanso tyrimas; Neu – neutrofilai; ŠF – šarminė fosfatazė.

Pulmonologija ir alergologija

klinikinius simptomus, laboratorinius rodiklius ir instrumentinius tyrimus. Pagal kriterijų atitikimą išskiriamas aiškus (neabejotinas) ir galimas Šnicler sindromas, atitinkamai šių kriterijų jautrumas yra 81 ir 93 proc., specifiskumas – 100 ir 97 proc. Taip pat reikėtų atmesti kitas galimas simptomų priežastis. Diferencinė diagnostika apima urtikarinę vaskulitą, suaugusiųjų Stilio ligą, KSPS, lėtinės spontaniškos dilgėlinės ir monokloninės gamapatijos kaip atskirų ligų tam pačiam pacientui pasireiškimą (3 lentelė).

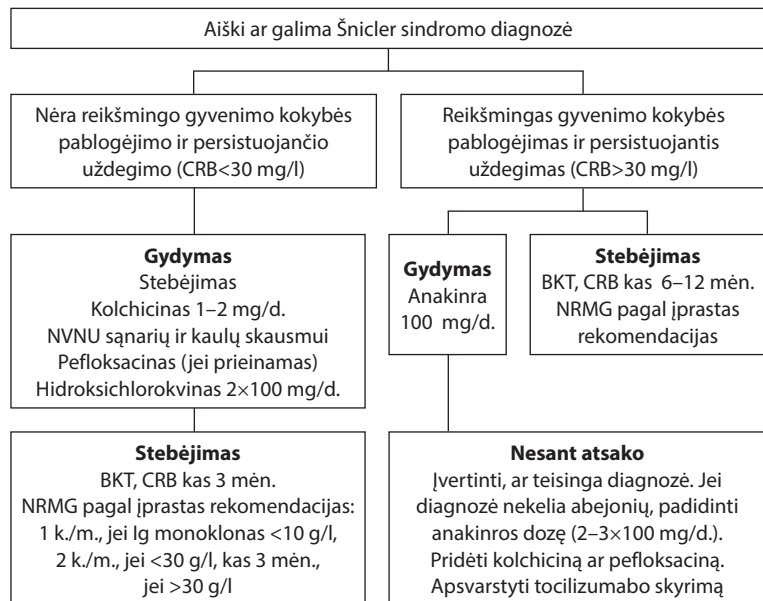
GYDYMAS

Nėra patvirtinto Šnicler sindromo gydymo. Antihistamininiais vaistais gydymas neveiksmingas, o NVNU, GKK, kolchicinas, dapsonas lemia ne pilną simptomų kontrolę. Veiksmingiausias gydymas – IL-1 blokuojantys preparatai: anakinra, rilonaceptas ir kanakinumabas. Pagal 2012 m. ekspertų sutarimą, rekomenduojama gydymo taktiką pasirinkti pagal uždegiminiuosius rodiklius ir paciento gyvenimo kokybę (3 pav. pateikiamos gydymo ir pacientų stebėsenos rekomendacijos) [1]. Pacientų, kurių gyvenimo kokybė stipriai nenukentėjusi ir nėra persistuojančio uždegiminių rodiklių padidėjimo, gydymui galima rinktis kolchiciną, NVNU, pefloksaciną arba hidroksichlorokviną (dominuojant sąnarių skausmui). Esant padidėjusiems uždegiminiams rodikliams ir pablogėjusiai gyvenimo kokybei, pirmojo pasirinkimo vaistas yra IL-1 receptoriaus antagonistas anakinra.

Anakinra skiriama 100 mg po dviem savaitėms injekcijomis kasdien. Klinikinis veiksmingumas pasireiškia greitai – simptomai praeina per kelias valandas po pirmos injekcijos. Nutraukus vaistą, simptomai atsinaujina po 36–48 val. Daliai pacientų simptomų kontrolė pasiekama leidžiantis anakinrą kas antrą dieną. Kontraindikacijos skirti šį vaistą yra padidėjusio jautrumo reakcijos vaistui arba inkstų funkcijos nepakankamumas, kai kreatinino klirensas yra <30 ml/min. Skiriant anakinrą rekomenduojama stebėti neutrofilų skaičių (galima neutropenija), kepenų fermentus, cholesterolio ir trigliceridų koncentraciją [1]. Dažniausios nepageidaujamos reakcijos yra vietinės odos reakcijos injekcijos vietoje, 2 proc. pacientų gali pasireikšti sunkios infekcijos [2]. Kiti IL-1 antagonistai rilonaceptas ir kanakinumabas taip pat buvo veiksmingi Šnicler sindromu sergančiųjų gydymui [24, 25]. Šie prepa-

3 lentelė. Pagrindinė diferencinė Šnicler sindromo diagnostika: bendrųjų požymių ir skirtumų palyginimas [21, 27]

Diferencinė diagnozė	Bendri požymiai	Skirtumai
Lėtinė spontaniškos dilgėlinės	Urtikarinis išbėrimas	Iki 50 proc. angioedema Stiprus niežėjimas Teigiama atsakas į gydymą antihistamininiais vaistais, omalizumabu Nebūdinga neutrofiliniai infiltratai odos biopsijoje
Hipokomplementinis urtikarinis vaskulitas	Urtikarinė egzantema (dažnai tęsiasi >24 val.) Sąnarių skausmas	Histologija – leukocitoklastinis vaskulitas su fibrinoidine kraujagyslių sienelės nekroze
Su kriopirinu susiję periodiniai sindromai	Pasikartojantis karščiavimas Bendras silpnumas Neutrofilinė infiltracija odos biopsijoje	Monogenetinė liga Prasideda vaikystėje Nebūdinga monokloninė gamapatija
Suaugusiųjų Stilio liga	Karščiavimas Neutrofilinė infiltracija odos biopsijoje	Faringitas ligos pradžioje Padidėjusi transaminazių koncentracija Padidėjęs feritino kiekis Rožinės spalvos („lašišinė“) makulopapulinė egzantema



3 pav. Šnicler sindromo gydymo ir stebėjimo rekomendacijos [1]

BKT – bendras kraujo tyrimas; CRB – C reaktyvinis baltymas; Ig – imunoglobulinas; NVNU – nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo; NRMG – neapibrėžtos reikšmės monokloninė gamapatija.

ratai pasižymi ilgesniu veikimo laiku (rilonaceptas leidžiamas kas savaitę, kanakinumabas – kas 4–8 sav.), tačiau yra žymiai brangesni. Prieš skiriant gydymą IL-1 antagonistais, rekomenduojama ištirti pacientus dėl latentinės tuberkuliozės.

Nesant gydymo poveikio, skiriant IL-1 antagonistus, tikslinga dar kartą įvertinti, ar teisingai nustatyta diagnozė [1]. Jei diagnozė patvirtinama, ekspertai rekomenduoja didinti anakinros dozę iki 3x100 mg per dieną ir derinti kartu su kolchicinu arba pefloksacinu

[1]. Aprašyti keli sėkmingo gydymo tocilizumabu, IL-6 antagonistu atvejai [26]. Taip pat atliekamas pilotinis klinikinis tyrimas su dapansutriliu, geriamuoju NLRP3 inflamzamosos inhibitoriumi, kuris teoriškai slopina IL-1 β ir IL-18 gamybą bei išsiskyrimą.

PIRMAS KLINIKINIS ATVEJIS

57 metų vyrą pradėjo varginti odos niežėjimas, išbėrimas pūklšlėmis, eritema. Iš gretutinių ligų pacientui prieš aštuonerius metus nustatyta prostatos karcinoma, buvo atlikta prostatektomija. Pacientui diagnozuota lėtinė dilgėlinė, gydymui buvo veiksmingi antihistamininiai vaistai. Po metų prasidėjo karščiavimo epizodai iki 39 °C, atsirado kaulų skausmas, kuris intensyviausias buvo blaudose. Kūno temperatūra labiausiai kildavo rytais, savaime nukrisdavo antroje dienos pusėje. Pacientas dėl karščiavimo kelis kartus buvo tirtas ligoninėje ir ambulatoriškai, tyrimais buvo nustatyta neutrofilinė leukocitozė (leukocitai $20,3 \times 10^9/l$, neutrofilai $17,3 \times 10^9/l$), padidėję uždegiminiai rodikliai (CRB svyrudavo nuo 30 iki >100 mg/l), hepatomegalija. Ligos pradžioje nustatyta padidėjusi transaminazių koncentracija, kuri vėliau normalizavosi. Gydymui buvo skiriami antibiotikai, GKK. Praėjus maždaug metams nuo karščiavimo pradžios, atlikus serumo baltymų elektroforezė, išsiskyrė IgM lengvųjų grandžių monoklonas. IgM koncentracija buvo padidėjusi (4,6 g/l, norma – 0,4–2,4 g/l). Kaulų čiulpų biopsijoje didesnių pokyčių nerasta. Reumatoidinis faktorius, antinukleariniai antikūnai (ANA), antineutrofiliniai citoplazminiai antikūnai (ANCA) neigiami. Krioglobulinemijos nerasta. Komplementas C3 normos ribose, rastas sumažėjęs komplemento C4 ir IgG (6,41 g/l, o norma – 7–16 g/l) kiekis. Atlikus odos biopsiją, nustatytas smulkiųjų ir vidutinių kraujagyslių leukocitoklastinis vaskulitas. Pakartojus odos biopsiją iš naujai atsiradusio išbėrimo elemento, histologiškai nustatyta nežymi endotelio edema, vidutiniškai gausi perivaskulinė neutrofilinė infiltracija, pavieniai intraepiderminiai neutrofilai bei neutrofilai prakaito liaukų epitelyje. Gydytojo patologo išvada: histologiniai pokyčiai suderinami su neutrofilinės urtikarinės dermatozės diagnoze. Pagal Strasbourg diagnostinius kriterijus pacientui buvo diagnozuotas Šnicler sindromas: pacientas atitiko du didžiuosius ir tris mažuosius kriterijus. Gydymui buvo skiriami GKK (metilprednizolonas iki 32 mg per dieną). Mažinant metilprednizolono dozę, atsinaujindavo odos išbėrimas, padidėdavo uždegiminiai rodikliai, todėl buvo pradėtas gydymas kolchicinu 1 g per dieną ir pateiktas prašymas ligonių kasoms dėl anakinros kompensavimo. Anakinros skyrimas buvo patvirtintas ir, gavus vaistą, numatyta pradėti gydymą IL-1 antagonistu.

ANTRAS KLINIKINIS ATVEJIS

54 metų moteriai atsirado į dilgėlinę panašus ne-
niežtintis išbėrimas (1, 2 pav.) liemens, galūnių srityse,

kuris išlikdavo odoje ilgiau nei 24 val. Paūmėjus išbėrimui, kartu prasidėdavo raumenų ir sąnarių skausmas. Pradžioje buvo diagnozuota lėtinė dilgėlinė, gydyta antihistamininiais vaistais, antibiotikais, skirtas plazmaferezių kursas – be žymesnio poveikio. Simptomai trumpam pagerėdavo po prednizolono kurso (vartojo kelis kartus iki 20 mg, 7 paras). Po dviejų ligos metų atlikta odos biopsija, rasta neryški epidermio atrofija ir netaisyklinga akantozė, dermos edema, negausi perivaskulinė limfocitinė infiltracija su neutrofilų priemaiša, pavieniais suirusiais neutrofilais aplinkinėje dermoje. Atlikus serumo baltymų elektroforezė, išsiskyrė IgM lambda lengvųjų grandžių monoklonas. Gydytojo hematologo diagnozuota IgM lambda monokloninė gamapatija, IgM 3,64 g/l (norma – 0,34–2,10). IgA, IgG, C3, C4 – norma, ANA – neigiami. CRB epizodiškai padidėdavo iki 41 mg/l, ENG iki 45 mm/val., nustatyta nežymi neutrofilinė leukocitozė (leukocitai $9,9 \times 10^9/l$, neutrofilai $8,5 \times 10^9/l$). Kaulų čiulpų biopsijoje didesnių pokyčių nerasta. Ligos pradžioje kelis kartus rasti citoplazminiai antineutrofiliniai antikūnai (c-ANCA), vėliau jie tapo neigiami, antikūnai prieš ekstrahuojamus branduolio antigenus (ENA) neigiami. Pacientė stebima gydytojo hematologo dėl IgM lambda monokloninės gamapatijos (specifinis gydymas neskiriamas), gydytojo alergologo ir klinikinio imunologo dėl įtariamo Šnicler sindromo (stebima simptomų dinamika, uždegiminiai rodikliai). Nuo 2017 m. pacientė gydoma gydytojo reumatologo dėl odos vaskulito, sąnarių skausmo, neapibrėžtos kilmės monokloninės gamapatijos hidroksichlorokvinu 200 mg 2 k./d., metilprednizolonu 6 mg/d. Gydymo pradžioje poveikis buvo geras, tačiau pastaraisiais metais būklė pablogėjo, išbėrimas dinamikoje sustiprėjo. Beria kasdien, labiausiai krūtinę ir pilvą. Išbėrimo paūmėjimo metu skauda pečius, nugarą. Kelis kartus per paskutinį pusmetį pacientė karščiavo be aiškios priežasties iki 37,8 °C su šaltkrėčiu, pagerėdavo suleidus 4 mg deksametazono į raumenis (vaistą leisdavo pati pacientė dėl raumenų skausmo). Rekomenduota padidinti metilprednizolono dozę iki 12 mg/d. – išbėrimų sumažėjo, karščiavimas nesikartojė.

IŠVADOS

Šnicler sindromas – tai reta įgyta autouždegiminė liga, kurią reikėtų įtarti vyresniems nei 40 metų pacientams, kuriems pasireiškia lėtinė dilgėlinė kartu su sistemineis simptomais (karščiavimu, sąnarių, raumenų arba kaulų skausmu, nuovargiu). Ligos diagnostikai svarbūs laboratoriniai tyrimai (padidėję uždegiminiai rodikliai, paraproteino nustatymas), odos biopsija ir kaulų scintigrafija. Pirmojo pasirinkimo ir veiksmingiausias vaistas esant aktyviai ligos eigai, anakinra. Ligos eiga lėtinė, iki 20 proc. pacientų išsivysto limfoproliferacinė liga, todėl reikalinga nuolatinė pacientų stebėseną.

LITERATŪRA

1. **Simon A, Asli B, Braun-Falco M, De Koning H, Ferman J-P, Grattan C, et al.** Schnitzler's syndrome: diagnosis, treatment, and follow-up. *Allergy*. 2013; 68: 562–68.
2. **Lipsker D.** The Schnitzler syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5:38.
3. **Ben-Chetrit E, Gattorno M, Gul A, Kastner DL, Lachmann HJ, Touitou I, et al.** Consensus proposal for taxonomy and definition of the autoinflammatory diseases (AIDS): a Delphi study. *Ann Rheum Dis*. 2018; 77:1558–65.
4. **Regnault MM, Frouin E, Jeru I, Delwail A, Charreau S, Barbarot S, et al.** Cytokine signature in Schnitzler syndrome: proinflammatory cytokine production associated to Th suppression. *Front Immunol*. 2020;11: 588322.
5. **Gusdorf L, Lipsker D.** Schnitzler syndrome: a Review. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19: 46.
6. **De Koning HD, van Vlijmen-Willems IMJJ, Rodijk-Olthuis D, van der Meer JWM, Zeeuwen PLJM, Simone A, et al.** Mast-cell interleukin-1beta, neutrophil interleukin-17 and epidermal antimicrobial proteins in the neutrophilic urticarial dermatosis in Schnitzler's syndrome. *Br J Dermatol*. 2015;173:448–56.
7. **Bonnekoh H, Scheffel J, Wu J, Hoffmann S, Maurer M, Krause K.** Skin and systemic inflammation in Schnitzler's syndrome are associated with neutrophil extracellular trap formation. *Front Immunol*. 2019;10:546.
8. **Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al.** Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303:1532–5.
9. **Hu SC, Yu HS, Yen FL, Lin CL, Chen GS, E. Lan CC.** Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human β -defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep*. 2016;6:31119.
10. **Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC, Hodgin JB, Khandpur R, Lin AM, et al.** Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2011;187:538–52.
11. **Apostolidou E, Skendros P, Kambas K, Mitroulis I, Konstantinidis T, Chrysanthopoulou A, et al.** Neutrophil extracellular traps regulate IL-1beta-mediated inflammation in familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis*. 2014;5:269–77.
12. **Pathak S, Rowczenio DM, Owen RG, Doody GM, Newton DJ, Taylor C, et al.** Exploratory study of MYD 88 L265P, rare NLRP3 variants and clonal hematopoiesis prevalence in patients with Schnitzler's syndrome. *Arthritis Rheumatol*. 2019.
13. **Kacar M, Pathak S, Savic S.** Hereditary systemic autoinflammatory diseases and Schnitzler's syndrome. *Rheumatology*. 2019;58:vi31–vi43.
14. **Gusdorf L, Lipsker D.** Neutrophilic urticarial dermatosis: an entity bridging monogenic and polygenic autoinflammatory disorders, and beyond. *JEADV*. 2020;34:685–90.
15. **De Koning HD.** Schnitzler's syndrome: lessons from 281 cases. *Clin Transl Allergy*. 2014;4:41.
16. **Lipsker D, Veran Y, Grunenberger F, Cribier B, Heid E, Grosshans E.** The Schnitzler syndrome. Four new cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2001;80: 37–44.
17. **Lecompte M, Blais G, Bisson G, Maynard B.** Schnitzler's syndrome. *Skeletal radiol*. 1998; 27:294–6.
18. **Darrieutort-Laffite C, Ansquer C, Aubert H, Kraeber-Bodéré F, Masseur A, Agard C, et al.** Rheumatic involvement and bone scan features in Schnitzler syndrome: initial and follow-up data from a single-center cohort of 25 patients. *Arthritis Research and Therapy*. 2020;22:272.
19. **Niederhauser BD, Dingli D, Kyle RA, Ringler MD.** Imaging findings in 22 cases of Schnitzler syndrome: characteristic par-articular osteosclerosis, and the "hot knees" sign differential diagnosis. *Skelet Radiol*. 2014;43:905–15.
20. **De Koning HD, Bodar EJ, van der Meer JW, Simon A.** Schnitzler Syndrome Study Group: Schnitzler syndrome: beyond the case reports: review and follow-up of 94 patients with an emphasis on prognosis and treatment. *Semin Arthritis Rheum*. 2007;37(3):137–48.
21. **Gellrich FF, Günther C.** Schnitzler syndrome. *Hautarzt* 2019.
22. **Rybojad M, Moraillon I, Cordoliani F, Lebbe C, Baccard M, Flageul B, et al.** Syndrome de Schnitzler avec déficit génétique en C4: deux observations. *Ann Dermatol Venerol*. 1993;120:783–5.
23. **Bonnekoh H, Krause K.** Das Schnitzler-Syndrom – eine seltene Differenzialdiagnose und interdisziplinäre Herausforderung. *Aktuelle Rheumatol*. 2017;42:53–8.
24. **Krause K, Weller K, Stefaniak R, Wittkowski H, Altrichter S, Siebenhaar F, et al.** Efficacy and safety of the interleukin-1 antagonist rilonacept in Schnitzler syndrome: an open-label study. *Allergy*. 2012;67:943–50.
25. **Betrains A, Staels F, Vanderschueren S.** Efficacy and safety of canakinumab treatment in Schnitzler syndrome: a systematic literature review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2020;50:636–42.
26. **Krause K, Feist E, Fiene M, Kallinich T, Maurer M.** Complete remission in 3 of 3 anti-IL-6-treated patients with Schnitzler syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:848–50.
27. **Więsik-Szewczyk E, Fellis-Giemza A, Dziuk M, Jahnz-Rożyk K.** Schnitzler syndrome in a 27-year-old man: diagnostic and therapeutic dilemma in adult autoinflammatory syndromes. A case report and literature review. *Int J Gen*. 2020;13:713–19.

Viability and effect of eosinophils on proliferation of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts in asthma

EOZINOFILŲ GYVYBINGUMAS IR POVEIKIS BRONCHŲ LYGIJŲ RAUMENŲ LĄSTELIŲ IR PLAUČIŲ FIBROBLASTŲ PROLIFERACIJAI SERGANT ASTMA

ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS

LSMU MA MF Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija

Summary. Andrius Januškevičius successfully defended a doctoral dissertation “Viability and effect of eosinophils on proliferation of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts in asthma” at the open session of the Biology Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on the 22th of April, 2021. The Dissertation has been prepared at the Laboratory of Pulmonology of Department of Pulmonology of the Faculty of Medicine of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2016–2020. The article presents the main results of the dissertation.

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Kęstutis Malakauskas (Lithuanian University of Health Sciences);

The Defense Council:

Prof. Dr. Vilmantė Borutaitė, chairperson (Lithuanian University of Health Sciences);

Prof. Dr. Rasa Baniienė (Lithuanian University of Health Sciences);

Assoc. Prof. Dr. Jurgita Skiecevičienė (Lithuanian University of Health Sciences,);

Prof. Dr. Sonata Jarmalaitė (Vilnius University);

Prof. Dr. Peter Howarth (University of Southampton).

Santrauka. 2021 m. balandžio 22 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto viešajame biologijos mokslo krypties tarybos posėdyje Andrius Januškevičius sėkmingai apgynė daktaro disertaciją „Eozinofilų gyvybingumas ir poveikis bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų proliferacijai sergant astma“. Disertacija rengta 2016–2020 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos fakulteto Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorijoje. Šiame straipsnyje pateikiami pagrindiniai disertacijos rezultatai.

Mokslinis vadovas:

prof. dr. Kęstutis Malakauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas).

Disertacijos gynimo taryba:

prof. dr. Vilmantė Borutaitė, pirmininkė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas)

prof. dr. Rasa Baniienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

doc. dr. Jurgita Skiecevičienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

prof. dr. Sonata Jarmalaitė (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai);

prof. dr. Peter Howarth (Sautamptono universitetas).

INTRODUCTION

Asthma is a heterogeneous and complexive disease with imbalanced airway tissue repair associated with airway inflammation and hyperresponsiveness, leading to recurrent coughing episodes, wheezing, breathlessness, and chest tightness (1). The morbidity of asthma reached the epidemic level and got worse every year (2), leaving behind a substantial economic burden to the countries.

Chronic airway inflammation rich in eosinophils is a critical feature seen in asthma. Eosinophilia is associated with increased asthma exacerbations and

more intense treatment (3, 4). Eosinophils are in the bone marrow matured granulocytes that circulate in the bloodstream and can be recruited to inflammation sites after immunological or inflammatory responses (5). Eosinophils release a high amount of cytokines, growth factors, chemokines, and lipid mediators that affect pulmonary structural cells activity and disturb lung homeostasis (Figure 1) (6).

Eosinophils develop from bone marrow progenitor cells under the control of specific set transcription factors and eosinophilopoietins – interleukin (IL)-3, IL-5, and granulocyte-macrophage colony-stimulating

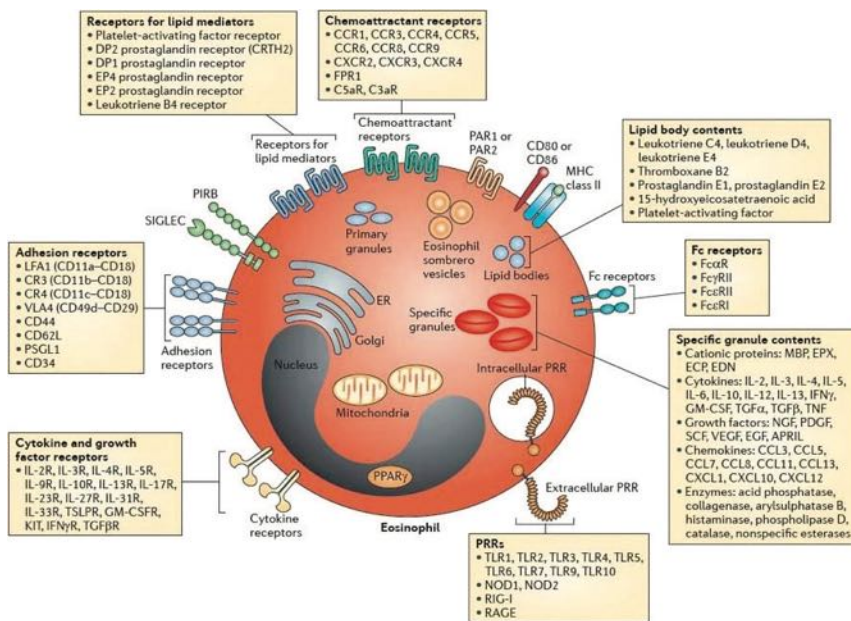


Figure 1. Cellular features of eosinophils (6)

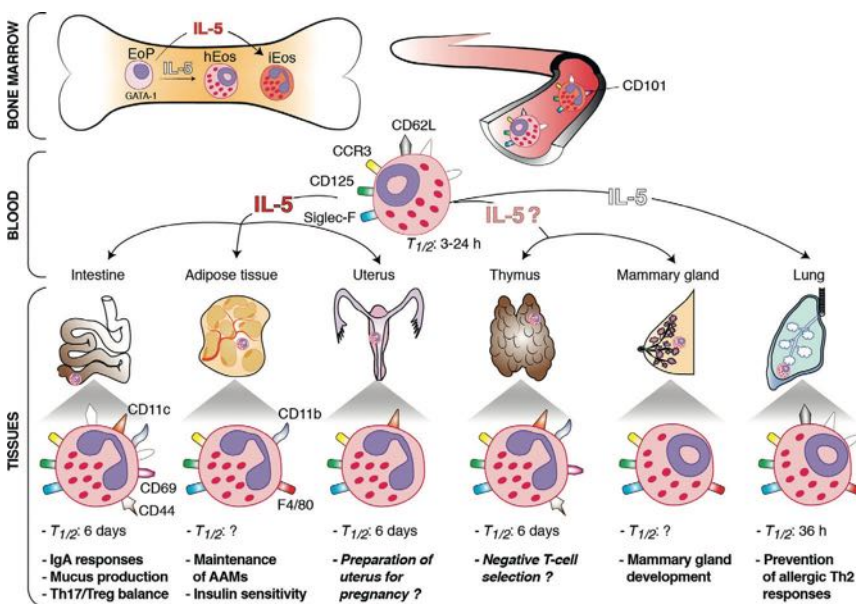


Figure 2. Overview of the tissue-resident eosinophils (29)

factor (GM-CSF) (7). Eosinophils remain viable up to 48 h in peripheral blood (8) while being in the lungs, prolongs their survival up to 36 h (9). Survival-promoting signals are different. IL-5 is essential and the most specific survival factor for eosinophils (10), but important mediators also include GM-CSF and IL-3 (11), tumor necrosis factor- α (12), leptin (13), and cluster of differentiation (CD) 40 engagement (14). However, there is evidence that eosinophils' direct interaction with pulmonary structural cells promotes their survival (15, 16), but the precise mechanisms remain unknown. Eosinophils integrins are transmembrane molecular mechanosensors that can change their activation states in asthma conditions and regulate

eosinophil activity and viability, transducing the signal through the cytoskeleton (17, 18). Through integrins, cell adhesion can trigger signal transduction and control cell growth, division, survival, cellular differentiation, and apoptosis (19, 20). Moreover, integrins ensure eosinophil rolling, stable adhesion, migration, respiratory bursts, and degranulation after interaction with their ligands. Ligands can be vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on ASM cells or fibroblasts, and extracellular matrix proteins as laminin, fibrinogen/fibrin, vitronectin, and periostin (21–23). However, as integrins' role on eosinophils biomechanical properties is well-known, the adhesion effect on their biological activity is insufficiently investigated.

Without chronic inflammation, allergic and non-allergic phenotypes of asthma are characterized by structural changes in the lungs called airway remodeling (24). Airway remodeling in asthma includes neoangiogenesis, subepithelial and airway smooth muscle (ASM) thickening, epithelial changes (25). These changes develop after repetitive cycles of tissue injury and abnormal repair processes because of chronic inflammation. Airway remodeling develops mainly due to disturbed ASM cells and pulmonary fibroblast proliferation that determine the increase in tissue mass because of enhanced cell number and the release of the extracellular matrix (ECM) components (26). Eosinophils might promote ASM cells and pulmonary fibroblast proliferation after producing pro-proliferative mediators, as transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) or cysteinyl leukotrienes (27, 28). However, we hypothesized that direct contact after stable adhesion through eosinophils integrins might also affect ASM cells and pulmonary fibroblasts proliferation. It could be affected due to direct signal transduction or increased eosinophils viability leading to a prolonged influence at inflammation sites. Moreover, recently was revealed the existence of two distinct eosinophils

subtypes – one subtype is called lung-resident eosinophils (rEOS), which mature independently to IL-5 and have the primary function to maintain tissue homeostasis, and inflammatory eosinophils (iEOS), which mature in IL-5-dependent manner and are mainly involved in immune responses (Figure 2) (29). There is lack of information about biological differences of eosinophils subtypes, however, their different localization in airways suggest about their distinct adhesive properties and adhesion-related survival.

Eosinophilic airway inflammation and its effect on airway remodeling receives a lot of attention by scientists; however, there are still a lot of unanswered questions. Studies to find new therapeutic targets for inhibition of eosinophils quantity and activity are essential for eosinophilic asthma treatment. Furthermore, there is a lack of information on how eosinophils' adhesion affects their survival and how prolonged eosinophils' viability could affect the development of airway remodeling.

METHODS

Study population

The study population was composed of newly recruited, not studied individuals. The study population consists of severe non-allergic eosinophilic asthma (SNEA) patients with high doses of inhaled steroids, steroid-free allergic asthma (AA) patients, and healthy subjects (HS) who comprised the control group. We included a total of 118 investigated subjects into the study completing all dissertation objectives: 46 AA patients, 28 patients with SNEA, and 44 healthy control subjects. For 21 AA group subjects and 19 HS subjects, the bronchial allergen challenge was performed. All participants were non-smokers. The patients were from the Department of Pulmonology at the Hospital of the Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos. A summary of the inclusion and exclusion criteria are provided in Figure 3.

Clinical examination

Forced vital capacity (FVC), baseline forced expiratory volume in one second (FEV₁), and FEV₁/FVC ratio was recorded as the highest of three reproducible measurements. The results were offset according to the predicted values under the standard methodology based on age, gender, and body height. Pulmonary function was assessed by using a pneumotachometric spirometer “CustovitM” (Custo Med, Germany). **Airway responsiveness** was registered using inhaled methacholine via pressure dosimeter (ProvoX, Niederlauer, Germany). The bronchoconstriction effect of each methacholine dose was expressed as a percentage of reduction in FEV₁ from the baseline value. The provocative amount of methacholine causing a $\geq 20\%$ fall in FEV₁ (PD20M) was calculated from the log dose-response curve by linear interpolation of two adjacent data points.

For all study participants, a **skin prick test** using standardized allergen extracts (Stallergenes, S.A., France) was assessed by using the following allergens: Dermatophagoides farina, D. pteronyssinus, dog and cat dandruff, birch pollen, five mixed grass pollens, Alternaria, mugwort, Cladosporium and Aspergillus. The positive control was histamine hydrochloride (10 mg/mL), and diluent (saline) was a negative control. Skin testing was read 15 min after application. The skin prick test results were considered positive if the mean wheal diameter was higher than 3 mm.

All study participants underwent **fractional exhaled nitric oxide (FeNO)** analysis using a single breath exhalation and an electrochemical assay (NIOX VERO, Circassia, U.K.) according to the European Respiratory Society - American Thoracic Society guidelines. Patients made an inhalation for FeNO-free air and followed by full exhalation for at least 10 sec.

For the **bronchial allergen challenge**, the inhaled D. Pteronyssinus allergen (DIATER, Spain) was used and performed via pressure dosimeter (ProvoX, Ganshorn

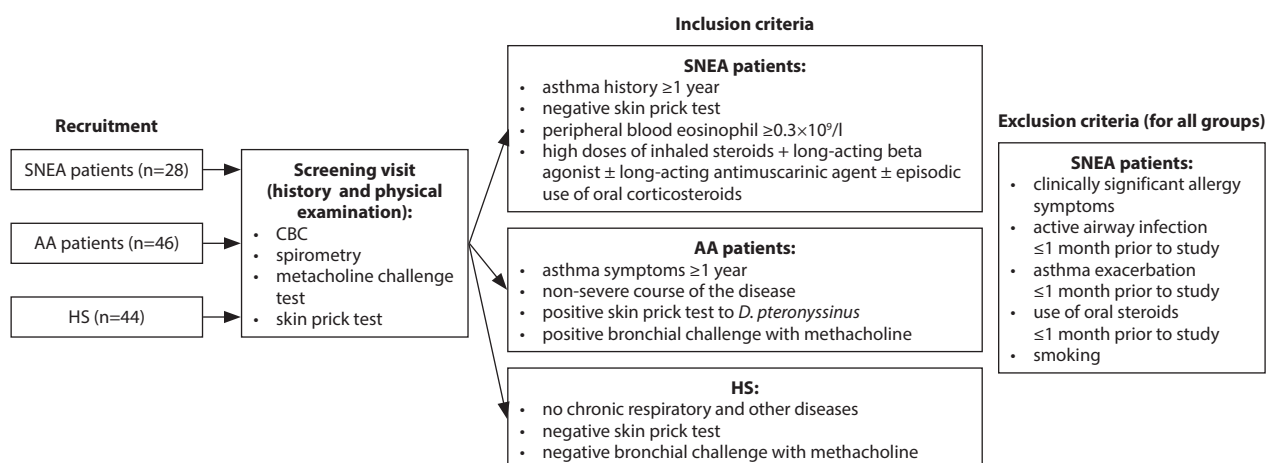


Figure 3. Exclusion and inclusion criteria of the study population

Disertacijos

Medizin Electronic, Niederlauer Germany). The allergen was inhaled every 10 min by histamine equivalent prick (HEP)/mL allergen concentration of 0.1, 1.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0 HEP/mL, interrupting the procedure after was achieved a 20% decrease in FEV₁ from the baseline. The provocative dose of allergen causing a $\geq 20\%$ fall in FEV₁ (PD_{20A}) was calculated from the log dose-response curve by linear interpolation of two adjacent data points.

Experimental methods

Granulocyte isolation from peripheral blood was performed by high density centrifugation with the Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, Helsinki, Finland) and hypotonic lysis of erythrocytes. **Eosinophil enrichment** from granulocytes was performed by adverse selection from the granulocyte fraction using Magnetic-activated cell sorting (MACS) with magnetically-labeled MicroBeads (Miltenyi Biotec, Somerville, USA).

Eosinophil's subtyping was performed by using magnetic beads conjugated antibodies (Miltenyi Biotec, Somerville, USA) against L-selectin (CD62L), expressed only on rEOS surface, but not on iEOS (31, 32) and purity confirmed by labeling populations with allophycocyanin (APC) conjugated antibodies against CD62L and CD101.

Non-specific eosinophils **integrins suppression** was performed by incubating the eosinophils with 0.125 mg/ml of integrins suppressing peptide Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) and negative control - Gly-Arg-Ala-Asp-Ser-Pro (GRADSP) (Sigma, Ronkonkoma, USA) for 1 h at 37°C.

Eosinophil adhesion was evaluated after 1 h of culturing with airway smooth muscle (ASM) cells or pulmonary fibroblasts (Sigma, Ronkonkoma, USA) by measuring residual eosinophils peroxidase (EPO) activity as described (33).

Viability assessment of ASM cells, pulmonary fibroblasts, and eosinophils was performed by staining with propidium iodide (PI) for necrotic cells and annexin V for apoptotic cells. For the cells viability assay, we used an Annexin V Apoptosis Detection Kit II (BD Bioscience, San Jose, USA) conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC).

Eosinophils effect on pulmonary fibroblasts and ASM cells **proliferation** was evaluated by incubating cells with Hank's balanced salt solution containing Alamar blue (10% v/v; Invitrogen by Life Technologies, Paisley, U.K.). Alamar blue reagent conversion to the reduced form is dependent on the cells' metabolic activity and was assayed by dual-wavelength spectrophotometry at 570 nm and 600 nm. The degree of Alamar blue conversion correlates to the viable cell number.

RNA isolation was performed with commercial columns type miRNeasy mini kit (Qiagen, Valen-

cia, CA). **Gene expression** was evaluated by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) using a Power SYBR® Green RNA-to-CT™ 1-Step kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) in a 7500 Fast Real-Time PCR system.

Statistical analysis.

Statistics were performed with GraphPad Prism 8 (Windows; ver. 8.01, 2018; GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). The Wilcoxon matched-pairs signed-rank two-sided test was applied for dependent groups. Mann-Whitney two-sided U-test was applied for significant differences between two independent groups. To compare the results with the hypothetical value, the Wilcoxon signet-rank test was used. The minimum limit for statistically significant values – $p < 0.05$.

RESULTS

Eosinophil adhesion and viability

Characteristics of study subjects

A total of 39 nonsmoking adults (14 men and 25 women) were investigated: 10 severe non-allergic eosinophilic asthma (SNEA) patients, 14 steroid-free non-severe allergic asthma (AA) patients, and 15 healthy control subjects (HS). SNEA group had the highest eosinophils count; however, it was also increased in AA patients compared to HS. The IgE levels were higher in AA and SNEA patients than HS, with a greater level in the AA group. FeNO was similarly increased in both asthma groups. Moreover, only in SNEA patients was observed a significant deterioration of lung function.

Eosinophils adhesion to pulmonary fibroblasts and airway smooth muscle cells

Our data present that $71.7\% \pm 3.5\%$ of AA patients' and $66.6\% \pm 5.8\%$ of SNEA patients' eosinophils adhere in co-culture with ASM cells after 1 h of incubation, and this count was significantly increased compared to HS ($47.2\% \pm 3.7\%$, $p < 0.05$) (Figure 4A). After supplementing the co-culture growth medium with the blood serum of the investigated individuals' was received decreased adhered eosinophils ratio to $46.7\% \pm 7.9\%$ of the added eosinophils count only in the SNEA group, $p < 0.05$, without any effect in other groups. Furthermore, adding double the number of eosinophils in the culture well, we received a significant decrease in AA and SNEA groups adhered eosinophils ratio respectively to $53.8\% \pm 5.0\%$ and $50.5\% \pm 6.4\%$ of the total added eosinophil, $p < 0.05$. It does not affect the HS group (Figure 4A). Resembling results were received by measuring eosinophil adhesion to pulmonary fibroblasts – $61.2\% \pm 4.6\%$ of eosinophils number adhered in the AA group, and $37.3\% \pm 3.7\%$ in the HS group, $p < 0.05$. Supplementing the medium with blood serum had no significant effect in both groups. Finally, the adhered eosinophil ratio decreased to

43.8% ± 7.4% in the AA group after using double the number of added eosinophils ($p < 0.05$) (Figure 4B).

Additionally, we observed that AA and HS eosinophils' peroxidase ability to oxidize o-phenylenediamine (o-PD), described as peroxidase activity, are similar – the average absolute values of oxidized o-PD was 0.21 ± 0.04 optical density (O.D) and 0.2 ± 0.3 O.D, respectively. The moderate SNEA eosinophil peroxidase activity was only 0.12 ± 0.02 O.D; however, there was no statistical significance comparing AA and HS groups, $p=0.069$ and $p=0.073$, respectively (Figure 4C). By measuring asthmatic eosinophils' adhesion intensity after different incubation periods with ASM cells, we found that adhesion is not time-dependent (Figure 4D).

We performed the bronchial challenge with *D. pteronyssinus* allergen for 22 study subjects – 11 subjects from the AA patient group and 11 subjects from the HS group. The effect of *in vivo* eosinophil activation was determined by comparing the results 24 h after a bronchial allergen challenge to the results at baseline. After bronchial allergen challenge significantly increased the peripheral blood eosinophil count in the AA group from $0.38 \pm 0.08 \times 10^9/L$ of cells to $0.45 \pm 0.06 \times 10^9/L$, while it does not affect HS group eosinophils count. Bronchial allergen challenge increased eosinophils adhesion only in the AA group, without an effect on HS eosinophils. Adhered eosinophils number in co-cultures with ASM cells increased from $69.5\% \pm 5.4\%$ to $87.1\% \pm 3.1\%$, while in co-cultures with pulmonary fibroblasts from $59.4\% \pm 4.3\%$ to $76.2\% \pm 4.2\%$ of the total added eosinophil count ($p < 0.05$) (Figure 5).

Eosinophils adhesion effect on the viability of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts

We investigated the eosinophil adhesion effect on their viability. We observed that after 24 h incubation in the serum-free growth medium, $71.5\% \pm 1.1\%$ of HS eosinophils are still viable, and this amount is significantly lower compared with AA and SNEA patients' eosinophils viability – respectively $74.6\% \pm 0.5\%$ and $77.1 \pm 0.5\%$, $p < 0.05$. The number of viable eosinophils significantly ($p < 0.01$) increased in the AA group to $82.3\% \pm 0.4\%$ and in the HS group to $74.2\% \pm 0.5\%$ after supplementing the medium

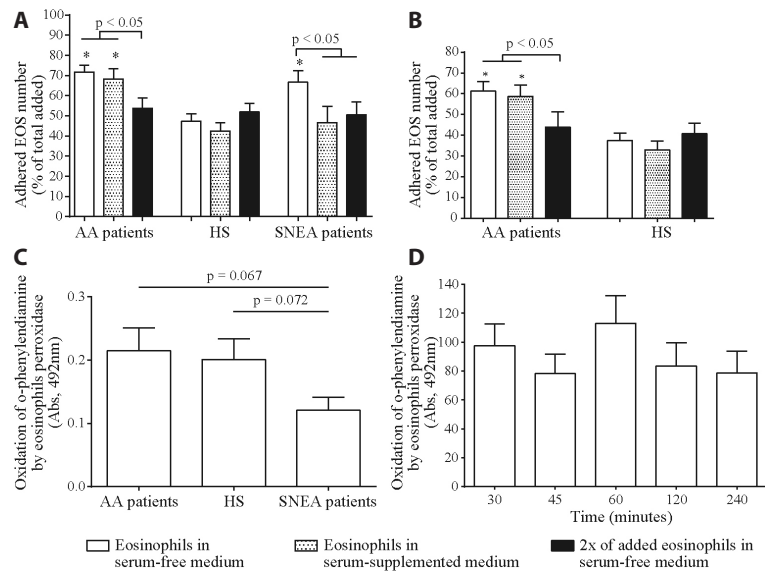


Figure 4. Eosinophil adhesion in co-culture with ASM cells and pulmonary fibroblasts: (A) Eosinophil adhesion to ASM cells; (B) Eosinophil adhesion to pulmonary fibroblasts; (C) EPO substrate activity of 12,500 eosinophils; (D) Asthmatic eosinophils adhesion after different incubation periods with ASM cells

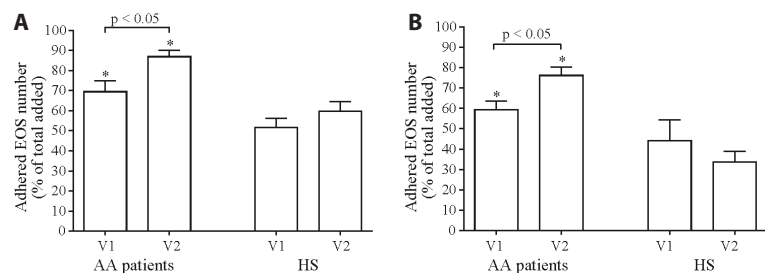


Figure 5. The effect of bronchial allergen challenge on the eosinophil adhesion: (A) Eosinophils adhesion to ASM cells; (B) eosinophils adhesion to pulmonary fibroblasts

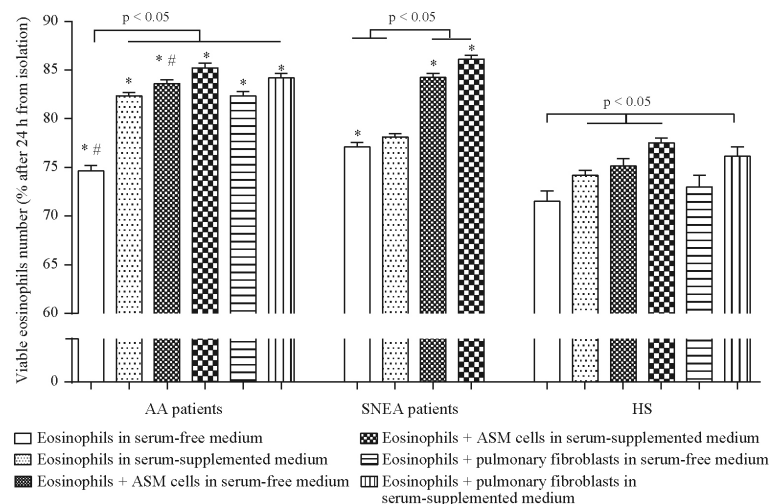


Figure 6. Eosinophil viability

with 2% of v/v of the investigated subjects' blood serum. It did not affect the SNEA patient group (Figure 6).

Making a co-cultures with ASM cells in the serum-free medium had the same effect as blood serum – the

Disertacijos

number of viable eosinophils increased to $83.6\% \pm 0.4\%$ in the AA group; $84.2\% \pm 0.4\%$ in the SNEA group; $75.1\% \pm 0.8\%$ in the HS group ($p < 0.05$). The co-culturing effect in AA and SNEA groups was significantly greater than in HS ($p < 0.05$). Resembling results were received after co-culturing AA and HS eosinophils with pulmonary fibroblasts – in AA group eosinophils viability increased to $82.3\% \pm 0.4\%$, in HS group – to $73.0\% \pm 1.2\%$ ($p < 0.05$). Supplementing the co-culture growth medium with the investigated subjects' blood serum did not have any additional effect on eosinophils' viability.

Activated eosinophils *in vivo* after bronchial allergen challenge positively affected AA patients' eosinophils viability – the number of non-viable eosinophils decreased by $7.6\% \pm 1.8\%$ if eosinophils were incubated alone in serum-free growth medium ($p < 0.005$) but did not affect healthy eosinophils. However, using *in vivo* allergen-activated eosinophils obtained from the HS group, a positive effect was seen if we used serum-supplemented growth medium – non-viable eosinophils number decreased by $6.3\% \pm 1.8\%$, $p < 0.01$. However, serum, collected after the bronchial allergen challenge did not affect the AA patient group more, compared to baseline. Furthermore, AA patients' allergen-activated eosinophil viability was increased more if they were co-cultured with pulmonary structural cells under standard conditions – in co-culture with ASM cells, non-viable eosinophils' number decreased by $7.6\% \pm 2.7\%$ and in co-culture with pulmonary fibroblasts by $8.3\% \pm 2.1\%$, $p < 0.01$ (Figure 7).

The pro-proliferative effect of eosinophils

Eosinophils effect on proliferation of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts

Eosinophils from 39 investigated individuals were isolated, and their effect on ASM cells and pulmonary fibroblasts proliferation was measured. Eosinophils, co-cultured for 72 h with ASM cells promoted their proliferation by $13.0\% \pm 2.4\%$ in AA group and $9.3\% \pm 3.2\%$ in SNEA group, while HS group eosinophils effect on ASM cells proliferation was significantly lower – increased by $4.0\% \pm 1.6\%$ ($p < 0.05$). 2% (v/v) of investigated subjects' blood serum in the growth medium positively affected ASM cell proliferation. Proliferation increased by $23.8\% \pm 7.0\%$ in the AA group if ASM cells were cultured alone in a serum-supplemented medium and were not significantly different if they were

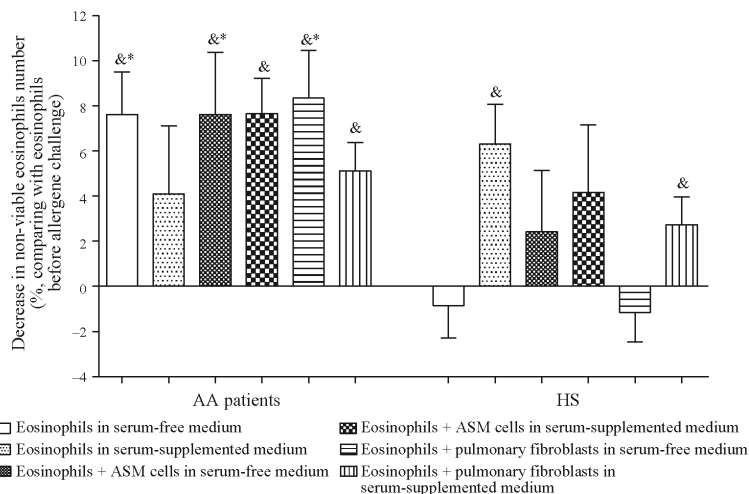


Figure 7. Bronchial allergen challenge effect on eosinophils viability

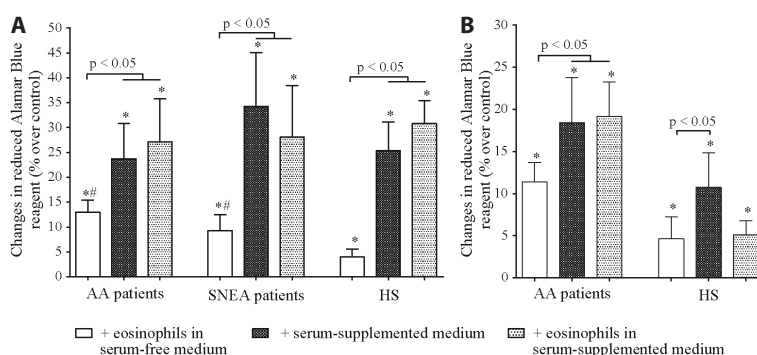


Figure 8. Eosinophils' effect on ASM cells and pulmonary fibroblasts proliferation: (A) Eosinophils' effect on ASM cell proliferation; (B) eosinophils' effect on pulmonary fibroblast proliferation

cultured under the same condition in the presence of eosinophils – proliferation increased by $27.2\% \pm 8.7\%$. Similar results were received in the SNEA group, where proliferation increased by $34.3\% \pm 10.8\%$ in serum-free and $28.1\% \pm 10.4\%$ in serum-supplemented medium, $p < 0.05$) and the HS group (respectively increased by $25.4\% \pm 5.7\%$ and $30.8\% \pm 4.6\%$, $p < 0.05$ (Figure 8A).

Resembling results were obtained by measuring the AA and HS eosinophil effect on the proliferation of pulmonary fibroblasts. After co-culturing with eosinophils, proliferation significantly increased by $11.4\% \pm 2.3\%$ in AA and $4.6\% \pm 1.6\%$ in HS groups. Supplementing growth medium with blood serum had a similar positive effect – in the AA group, the pulmonary fibroblast proliferation increased by $18.4\% \pm 5.3\%$, in the HS group by $10.8\% \pm 4\%$, $p < 0.05$. The presence of eosinophils in serum-supplemented growth medium increased proliferation by $19.2\% \pm 4.1\%$ only in the AA group, without significant pulmonary fibroblast proliferation differences in serum-supplemented medium alone (Figure 8B).

Moreover, we evaluated *in vivo* activated AA and HS eosinophils' effect on ASM cells and pulmonary fibroblasts proliferation. We observed that *in vivo*

activated eosinophils' pro-proliferative effect on ASM cells in the AA group was enhanced by $11.6\% \pm 8.7\%$ and in the HS group by $9.8\% \pm 4.1\%$, compared with the effect of non-activated eosinophils (Figure 9A). A promoted eosinophils pro-proliferative effect on pulmonary fibroblasts was observed only in the AA group by $7.2\% \pm 2.5\%$, compared with the non-activated eosinophils effect (Figure 9B). Bronchial allergen challenge did not affect serum-promoted pulmonary structural cell proliferation.

Eosinophils effect on apoptosis of airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts

We evaluated the eosinophil effect on pulmonary structural cell apoptosis after 24 h of co-culturing, with the purpose to investigate the mechanisms through which eosinophils affect pulmonary structural cell proliferation. $9.2\% \pm 0.6\%$ of ASM cells and $7.5\% \pm 0.4\%$ of pulmonary fibroblasts in culture were apoptotic after detachment and staining procedures. Apoptotic ASM cell number decreased to $5.3\% \pm 0.5\%$ in the AA patients group ($p < 0.05$) and to 4.0 ± 0.3 in the SNEA patients group ($p < 0.05$), without a significant effect in the HS ($p=0.14$), after co-culturing with eosinophils from respective group (Figure 10A).

Similarly, eosinophils significantly ($p < 0.05$) reduced the number of apoptotic pulmonary fibroblasts in the AA patient group to $5.5\% \pm 0.4\%$ but did not affect the HS group (Figure 10B). Supplementing growth medium with investigated individuals blood serum (2% of v/v) enhanced the effect of eosinophils only in the HS group, where apoptotic ASM cell number was reduced from $7.9\% \pm 0.9\%$ in serum-free medium to $4.9\% \pm 0.7\%$ in serum-supplemented medium ($p < 0.05$) (Figure 10A). Unlike ASM cells, eosinophils' effect on pulmonary fibroblasts apoptosis was significantly enhanced only in the AA patients group – the apoptotic number decreased from $5.5\% \pm 0.4\%$ in serum-free medium to $3.7\% \pm 0.5\%$ in the serum-free medium of the total cell count in culture (Figure 10B).

Eosinophils' effect on ASM cells and pulmonary fibroblast apoptosis was determined enhanced after bronchial allergen challenge. A total apoptotic ASM cell number in the AA patients group reduced from $5.5\% \pm$

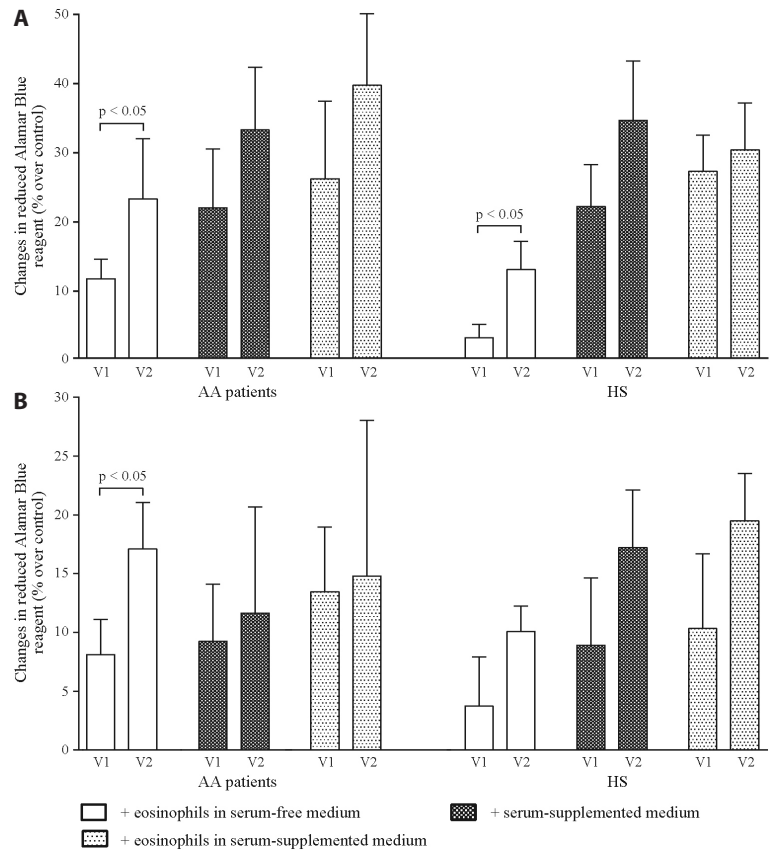


Figure 9. The effect of bronchial allergen challenge on ASM cells and pulmonary fibroblasts proliferation: (A) The effect of a bronchial allergen challenge activated eosinophil on ASM cell proliferation; (B) the effect of a bronchial allergen challenge activated eosinophil on pulmonary fibroblast proliferation

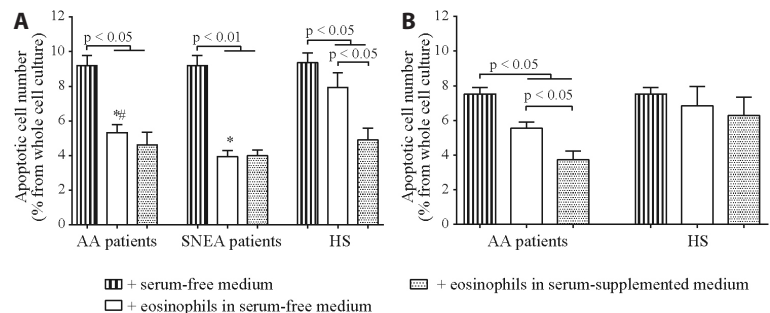


Figure 10. Eosinophils' effect on ASM cells and pulmonary fibroblasts apoptosis: (A) ASM cell apoptosis; (B) pulmonary fibroblast apoptosis

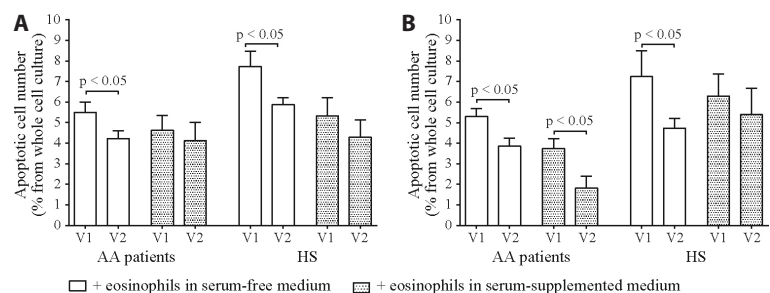


Figure 11. Bronchial allergen challenge effect on ASM cells and pulmonary fibroblasts apoptosis: (A) Bronchial allergen challenge effect on eosinophil-induced ASM cell apoptosis; (B) Bronchial allergen challenge effect on eosinophil-induced pulmonary fibroblast apoptosis

Disertacijos

0.5% to $4.2\% \pm 0.4\%$, and in the HS group from $7.7\% \pm 0.7\%$ to $5.8\% \pm 0.3\%$ (Figure 11A). Moreover, in the AA patient group apoptotic pulmonary fibroblasts number after co-culturing with *in vivo* activated eosinophils reduced from $5.3\% \pm 0.4\%$ to $3.9\% \pm 0.4\%$, and in the HS group from $7.2\% \pm 1.3\%$ to $4.7\% \pm 0.5\%$ (Figure 10B). After supplementing the growth medium with the investigated individuals blood serum, collected 24 h after the bronchial allergen challenge, eosinophils effect on the reduction of apoptosis was seen only to pulmonary fibroblasts in the AA patients group – the apoptotic cell number reduced from $3.7\% \pm 0.5\%$ in serum-free medium to $1.8\% \pm 0.6\%$ in serum-supplemented medium ($p < 0.05$) (Figure 11B).

Suppression of eosinophil integrins

Characteristics of study subjects

39 non-smoking adults were investigated: 22 steroid-free non-severe AA patients and 15 HS who constituted the control group. AA group exhibited airway hyper-responsiveness (PD20) and positive skin prick tests. Moreover, all AA patients had significantly higher numbers of peripheral blood eosinophils and increased eosinophil number in induced sputum. No significant differences in age, gender balance, or FEV¹ were determined between groups.

Gene expression of eosinophil integrins

Our results show that eosinophils isolated from AA patients group had 3.7 \pm 1.0-fold of α_4 , 4.1 \pm 1.1-fold of β_1 , 4.6 \pm 1.4-fold of α_M , and 16.8 \pm 4.9-fold of β_2 mRNA more, compared to eosinophils from HS (Figure 12A). We also determined the abundance of α_4 , α_M , β_1 , and β_2 mRNA in eosinophils, collected from co-cultures after 24 h incubation with ASM cells (Figure 12B). We determined that eosinophils exhibited a 6.0 ± 1.8 -fold increase in α_4 mRNA than eosinophils that were not incubated with ASM cells in the AA group ($p < 0.05$). In contrast, eosinophils from HS exhibited no change in α_4 , α_M , β_1 , and β_2 mRNA after 24 co-culture with human ASM cells (Figure 12B). We received no change in other integrins subunits mRNA abundance after co-culture with ASM cells in eosinophils from either healthy or asthmatic donors.

Effect of integrins suppression on eosinophils adhesion to airway smooth muscle cells

Calibration curve analysis revealed that the eosinophil number significantly correlated with light absorbance value (Figure 13A). One hour was the

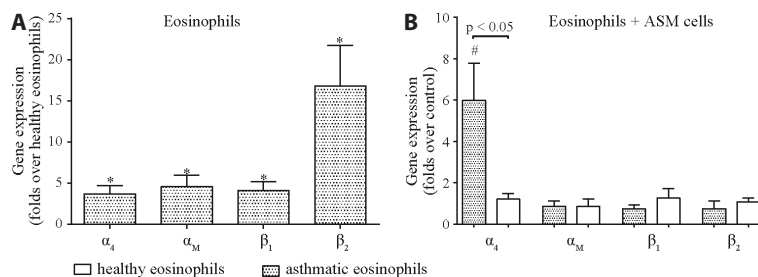


Figure 12. Gene expression of eosinophils integrins: (A) Integrins gene expression differences between AA patients and HS groups; (B) 24 h incubation with ASM cells effects on eosinophil integrins gene expression

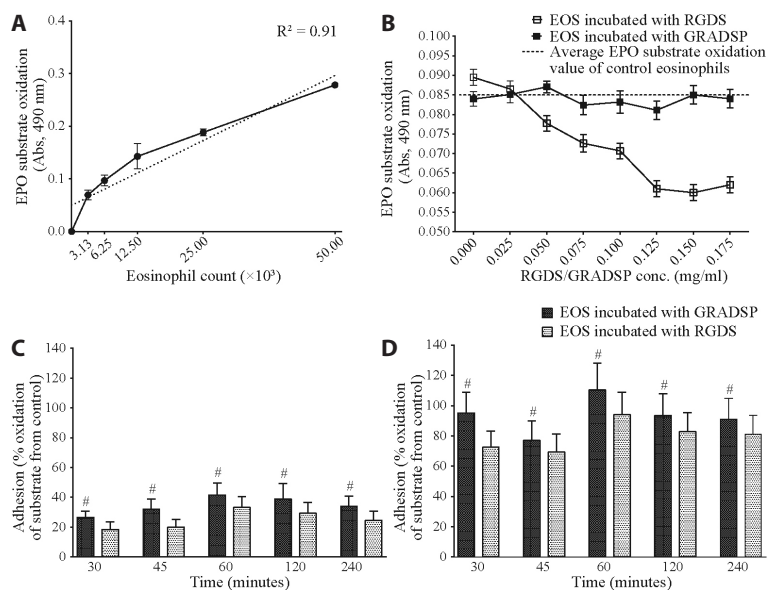


Figure 13. Measurement of eosinophil adhesion: (A) Dependency of EPO substrate oxidation by eosinophil count; (B) The efficiency of eosinophils integrins-suppression at different concentrations of RGDS/GRADSP peptides; (C) The effects of eosinophils integrins-suppression on their adhesion to ASM cells in the HS group at various incubation periods; (D) The effects of eosinophils integrins-suppression on their adhesion to ASM cells in the AA group at various incubation periods

optimal incubation period for sufficient formation of the electrostatic junction between the eosinophil integrin active center and the amino acids of RGDS peptide (0.125 mg/mL). Moreover, we determined the most effective RGDS concentration (0.125 mg/mL) to significantly suppress eosinophil integrin. We determined that negative control GRADSP had no integrins blocking properties as EPO substrate oxidation by non-treated eosinophils and eosinophils incubated with GRADSP was equal (Figure 13B).

AA patients' eosinophils adhesion was increased over HS eosinophils at all time points, with an average value of $58.8 \pm 4.5\%$ ($p < 0.05$). The integrin-suppressing peptide significantly reduced eosinophil adhesion in both the AA and HS groups. In the HS group, adhesion decreased by an average of $9.5 \pm 0.7\%$ (Figure 13C), while suppressing eosinophil integrin in the AA group reduced adhesion by an average of $13.5 \pm 2.7\%$ (Figure 13D).

Effect of integrins suppression on eosinophils-induced airway smooth muscle cell proliferation

Eosinophils isolated from AA patients' peripheral blood had a more significant effect on ASM cell proliferation than eosinophils from healthy control participants. After ASM cells were incubated for 72 h with eosinophils from the AA group, they showed increased proliferation by $22.4 \pm 3.78\%$, whereas the proliferation of eosinophils from the HS group only increased by $6.9 \pm 1.5\%$. After ASM cells were incubated with integrins-suppressed eosinophils from the AA patients, ASM cells proliferation increased only by $11.5 \pm 2.5\%$, while integrins-suppressed eosinophils from the HS group increased proliferation by $2.9 \pm 0.8\%$ (Figure 14).

Blood eosinophils subtypes and their adhesion-related viability

Characteristics of study subjects

A total of 40 non-smoking adults were investigated: 10 steroid-free non-severe AA patients, 18 SNEA patients with high doses inhaled steroids, and 12 non-smoking HS. SNEA patients distinguished by older age, a significantly decreased lung function, and increased blood eosinophils count, compared with AA and HS groups. However, blood eosinophils count was also increased in AA patients compared to HS. AA and SNEA patients distinguished by significantly increased IgE levels, compared with HS, but the highest level was in the AA group. FeNO was similarly increased in both asthma groups but not in HS.

The bronchial allergen challenge with *D. pteronyssinus* allergen was performed for all AA patients and 8 HS. A significant increase was observed in the peripheral blood eosinophil count in the AA group following allergen exposure, without changes in IgE and FeNO levels. There were no significant changes in clinical data in the HS group.

Lung-resident and inflammatory eosinophils quantity in peripheral blood

Isolated peripheral blood eosinophils were divided into subtypes by CD62L antibodies conjugated with magnetic beads. The predominant eosinophils subtype in AA patients was iEOS – $62.8 \pm 5.8\%$ vs. $37.2 \pm 5.8\%$ of rEOS ($p < 0.05$) of total isolated eosinophils. However, the SNEA patients group predominant subtype was the opposite; there was rEOS – 63.8 ± 3.8 vs. 36.2 ± 3.8 of iEOS ($p < 0.05$). No significant difference between eosinophils subtypes number was found in the HS group – $48.7 \pm 5.9\%$ of iEOS vs. $51.3 \pm 5.8\%$ of rEOS of total isolated eosinophils number (Figure 15A).

24 h after bronchial challenge with *D. pteronyssinus*, the dominance of iEOS in the AA group was repealed, and the proportion of iEOS and rEOS became equal, respectively $51.8 \pm 5.8\%$ of iEOS and 48.2 ± 5.8 of rEOS (Figure 15B). The proportion of iEOS and rEOS quantity in the HS group did not change after the allergen challenge.

Adhesion of lung-resident and inflammatory eosinophils on airway smooth muscle cells

We have investigated the differences in rEOS and iEOS adhesive properties. It was revealed that rEOS were characterized by higher adhesion compared to iEOS in all investigated groups. After one hour

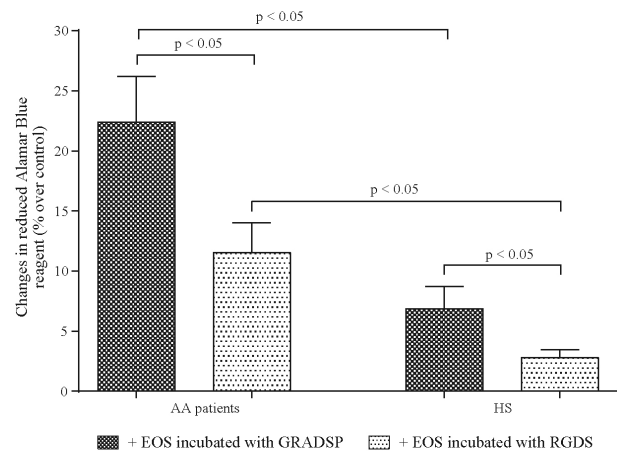


Figure 14. Eosinophils' effect on ASM cells proliferation

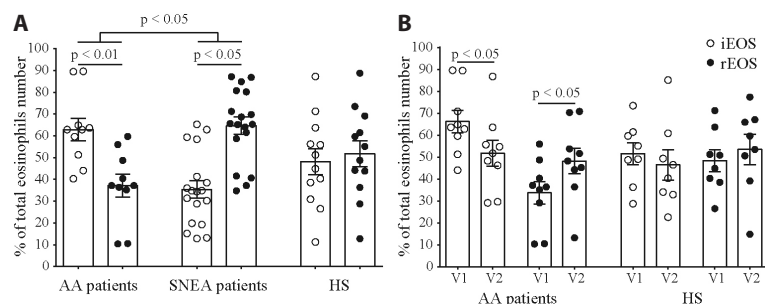


Figure 15. The proportion of blood rEOS and iEOS quantity: (A) rEOS and iEOS quantity in investigated individuals' peripheral blood; (B) rEOS and iEOS quantity in investigated individuals' peripheral blood after bronchial allergen challenge

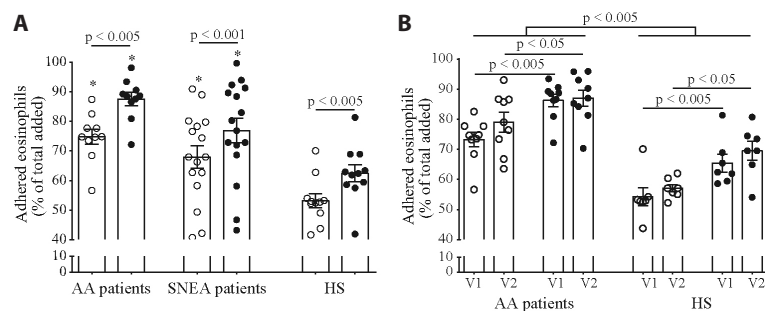


Figure 16. Adhesion of eosinophils subtypes: (A) blood rEOS and iEOS adhesion to ASM cells; (B) blood rEOS and iEOS adhesion to ASM cells after bronchial allergen challenge

Disertacijos

of incubation with ASM cells, in the AA group $87.6 \pm 2.2\%$ of rEOS and only $74.8 \pm 2.6\%$ of iEOS were found stable adhered in the co-culture ($p < 0.005$); in SNEA group – $76.9 \pm 4.1\%$ of rEOS and $68.0 \pm 4.0\%$ of iEOS ($p < 0.0001$); in HS group – $62.4 \pm 3.2\%$ of rEOS and 53.3 ± 2.6 of iEOS ($p < 0.005$). Between AA and SNEA groups, no significant difference in adhesive properties of eosinophils subtypes was found; however, the adhesion of both asthma groups patients' eosinophils was enhanced, compared with the HS group. In the AA group, the amount of adhered rEOS was $25.2 \pm 2.2\%$ and iEOS – by $21.6 \pm 2.6\%$ higher, compared to the same eosinophils subtype from HS group, while in the SNEA group rEOS – by $14.5 \pm 4.1\%$ and iEOS – by $14.7 \pm 4.0\%$ ($p < 0.0001$) (Figure 16A).

It was found that the bronchial allergen challenge performed to AA and HS groups did not increase iEOS and rEOS adhesive properties compared with non-activated eosinophils. However, both eosinophils subtypes of the AA group continued to demonstrate increased adhesion after the challenge, compared with HS – $79.0 \pm 3.3\%$ vs. $57.1 \pm 1.5\%$ of iEOS have stably adhered with ASM cells and $87.0 \pm 2.7\%$ vs. $69.5 \pm 3.8\%$ of rEOS, respectively ($p < 0.001$) (Figure 16B).

Blood lung-resident and inflammatory eosinophils viability

We have measured and compared the viability of blood eosinophils subtypes after 24 h incubation in serum-free growth medium or in co-culture with ASM cells.

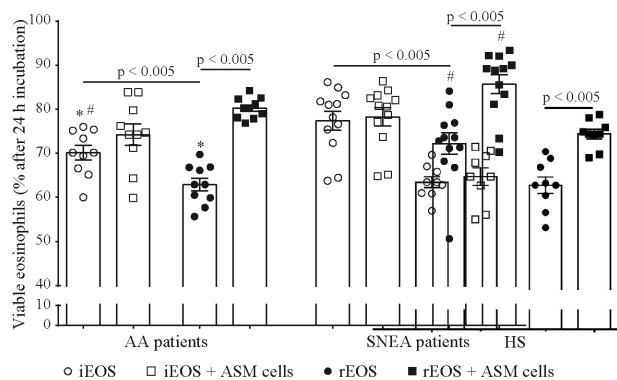


Figure 17. Viability of blood eosinophils subtypes

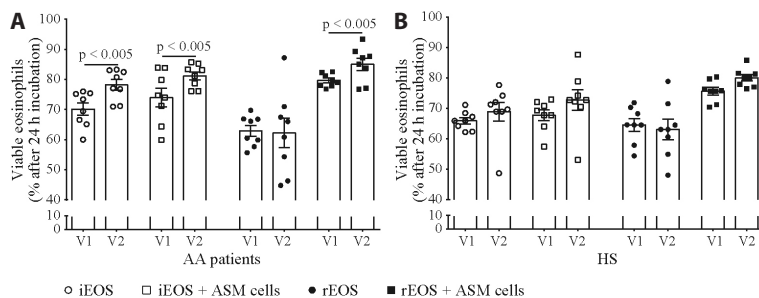


Figure 18. Blood eosinophils subtypes viability after bronchial allergen challenge: (A) viability of AA patients blood eosinophils subtypes after bronchial allergen challenge; (B) the viability of HS blood eosinophils subtypes after bronchial allergen challenge

We determined that in a serum-free growth medium, the most viable eosinophils subtype remained iEOS isolated from SNEA patients – $77.4 \pm 2.1\%$ of iEOS remain viable. The viability was significantly higher than iEOS, isolated from AA patients – $70.1 \pm 1.8\%$, and HS group – $64.8 \pm 1.4\%$ ($p < 0.05$). Compared with rEOS of the same study subjects, iEOS viability was higher by $7.2 \pm 2.2\%$ in the AA group and $5.2 \pm 2.2\%$ in the SNEA group ($p < 0.05$). After 24 h of incubation with ASM cells under the standard conditions, the viability of eosinophils subtypes was different. Co-culturing with ASM cells does not affect iEOS viability in all investigated groups; however, it had a significant effect on rEOS – in the AA patients' group, the rEOS viability increased by $17.4 \pm 1.9\%$, in the SNEA group by $13.5 \pm 3.1\%$, and in HS group by $11.8 \pm 2.3\%$ ($p < 0.01$). The co-culturing effect on rEOS viability was not significantly different between groups (Figure 17).

Furthermore, we have evaluated the bronchial allergen challenge effect on iEOS and rEOS viability in AA patients and HS groups. It was found that iEOS viability in the serum-free growth medium significantly increased by $8.0 \pm 0.8\%$ in the AA group, and by $7.2 \pm 2.3\%$ in co-culture with ASM cells, $p < 0.05$, compared with non-activated iEOS. Moreover, the bronchial allergen challenge did not affect rEOS viability if they were incubated alone; however, it enhanced the adhesion-related rEOS viability in co-culture with ASM cells – viable rEOS number increased by $5.3 \pm 1.0\%$ ($p < 0.05$), compared with non-activated rEOS (Figure 18A). There was no effect on iEOS and rEOS viability after the allergen challenge in the HS group (Figure 18B).

CONCLUSIONS

Eosinophils isolated from the blood of allergic asthma and severe non-allergic eosinophilic asthma patients demonstrate the enhanced adhesion compared with the healthy subjects group. The increased adhesion of asthmatic eosinophils prolongs their viability, with the highest effect in the severe non-allergic eosinophilic asthma group. Moreover, in vivo allergen-activated blood eosinophils demonstrate a higher adhesion and viability compared with non-activated eosinophils in allergic asthma patients.

Asthmatic eosinophils promote airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts proliferation by significant inhibition of their apoptosis compared with healthy subjects. Allergen-activated eosinophils exhibit a more intense pro-proliferative effect on airway smooth muscle cells and pulmonary fibroblasts compared to non-activated eosinophils.

Non-specific suppression of eosinophils integrins with Arg-Gly-Asp-Ser peptide significantly reduces asthmatic and healthy eosinophils' adhesion to airway smooth muscle cells and diminishes the eosinophils' effect on the proliferation of airway smooth muscle cells.

The predominant blood eosinophils subtype in allergic asthma patients are inflammatory eosinophils, while lung-resident eosinophils prevail in severe non-allergic eosinophilic asthma patients. Moreover, lung-resident eosinophils demonstrate a higher adhesion intensity compared with inflammatory eosinophils in all investigated groups. The viability of inflammatory eosinophils from allergic asthma and severe non-allergic eosinophilic asthma groups is higher than lung-resident eosinophils under standard conditions; however, lung-resident eosinophils viability increased after their incubation with airway smooth muscle cells. Bronchial allergen challenge abolishes blood inflammatory eosinophils' dominance in allergic asthma patients and prolongs only inflammatory eosinophils viability, but did not affect any eosinophils' subtypes adhesion.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

Eosinophils adhesion intensity and predominant blood eosinophils subtype should be determined for eosinophilic asthma patients with the purpose of improving the prospects of asthma treatment. The integrins suppressing agents as RGDS peptide might be used to manage eosinophils' viability and further affect airway remodeling in asthma. However, due to complex methodologies, new methods of its applicability need to be searched.

THESIS PUBLICATIONS

1. Januskevicius A, Jurkeviciute E, Janulaityte I, Kalinauskaite-Zukauskas V, Miliauskas S, Malakauskas K. Blood Eosinophils Subtypes and Their Survivability in Asthma Patients. *Cells*. 2020;9(5):1248.
2. Januskevicius A, Janulaityte I, Kalinauskaite-Zukauskas V, Gosens R, Malakauskas K. The Enhanced Adhesion of Eosinophils Is Associated with Their Prolonged Viability and Pro-Proliferative Effect in Asthma. *J Clin Med*. 2019;8(9):1274.
3. Januskevicius A, Gosens R, Sakalauskas R, Vaitkiene S, Janulaityte I, Halayko AJ, Hoppenot D, Malakauskas K. Suppression of Eosinophil Integrins Prevents Remodeling of Airway Smooth Muscle in Asthma. *Front Physiol*. 2017;7:680.
4. Januskevicius A, Vaitkiene S, Gosens R, Janulaityte I, Hoppenot D, Sakalauskas R, Malakauskas K. Eosinophils enhance WNT-5a and TGF- β 1 genes expression in airway smooth muscle cells and promote their proliferation by increased extracellular matrix proteins production in asthma. *BMC Pulm Med*. 2016;16(1):94.

REFERENCES

1. Keglówich LE, Borger P. The Three A's in Asthma - Airway Smooth Muscle, Airway Remodeling & Angiogenesis. *Open Respir Med J*. 2015;9:70-80.
2. Cockcroft DW. Epidemic thunderstorm asthma. *Lancet Planet Health*. 2018;2(6):e236-e7.
3. Zeiger RS, Schatz M, Li Q, Chen W, Khatri DB, Gossage D, et al. High blood eosinophil count is a risk factor for future

- asthma exacerbations in adult persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014;2(6):741-50. e4.
4. Bjerregaard A, Laing IA, Backer V, Fally M, Khoo SK, Chidlow G, et al. Clinical characteristics of eosinophilic asthma exacerbations. *Respirology*. 2017;22(2):295-300.
5. Possa SS, Leick EA, Prado CM, Martins MA, Tibério IFLC. Eosinophilic inflammation in allergic asthma. *Front Pharmacol*. 2013;4:46.
6. Ravin KA, Loy M. The eosinophil in infection. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;50(2):214-27.
7. Shearer WT, Rosenwasser LJ, Bochner BS, Martinez-Moczygmba M, Huston DP. Biology of common β receptor-signaling cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(4):653-65.
8. Farahi N, Singh NR, Heard S, Loutsios C, Summers C, Solaneki CK, et al. Use of 111-indium-labeled autologous eosinophils to establish the in vivo kinetics of human eosinophils in healthy subjects. *Am J Hematol*. 2012;120(19):4068-71.
9. Carlens J, Wahl B, Ballmaier M, Bulfone-Paus S, Förster R, Pabst O. Common γ -chain-dependent signals confer selective survival of eosinophils in the murine small intestine. *J Immunol Res*. 2009;183(9):5600-7.
10. Takatsu K, Nakajima H. IL-5 and eosinophilia. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(3):288-94.
11. Valerius T, Repp R, Kalden JR, Platzer E. Effects of IFN on human eosinophils in comparison with other cytokines. A novel class of eosinophil activators with delayed onset of action. *J Immunol Res*. 1990;145(9):2950-8.
12. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death. *Cell*. 1994;76(6):959-62.
13. Conus S, Bruno A, Simon H-U. Leptin is an eosinophil survival factor. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(6):1228-34.
14. Bureau F, Seumois G, Jaspas F, Vanderplassen A, Detry B, Pastoret P-P, et al. CD40 engagement enhances eosinophil survival through induction of cellular inhibitor of apoptosis protein 2 expression: Possible involvement in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(3):443-9.
15. Hallsworth MP, Soh CP, Twort CH, Lee TH, Hirst SJ. Cultured human airway smooth muscle cells stimulated by interleukin-1 β enhance eosinophil survival. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998;19(6):910-9.
16. Solomon A, Shmilowich R, Shasha D, Frucht-Pery J, Pe'er J, Bonini S, et al. Conjunctival fibroblasts enhance the survival and functional activity of peripheral blood eosinophils in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(5):1038-44.
17. Ahmadzai M, Small M, Sehmi R, Gauvreau G, Janssen LJ. Integrins are mechanosensors that modulate human eosinophil activation. *Front Immunol*. 2015;6:525.
18. Meerschaert J, Vrtis RE, Shikama Y, Sedgwick JB, Busse WW, Mosher DF. Engagement of $\alpha 4 \beta 7$ integrins by monoclonal antibodies or ligands enhances survival of human eosinophils in vitro. *J Immunol Res*. 1999;163(11):6217-27.
19. Kim S-H, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endocrinol*. 2011;209(2):139.
20. Carbonell WS, DeLay M, Jahangiri A, Park CC, Aghi MK. $\beta 1$ integrin targeting potentiates antiangiogenic therapy and inhibits the growth of bevacizumab-resistant glioblastoma. *Cancer Res*. 2013;73(10):3145-54.
21. Barthel SR, Johansson MW, McNamee DM, Mosher DF. Roles of integrin activation in eosinophil function and the eosinophilic inflammation of asthma. *J Leukoc Biol*. 2008;83(1):1-12.
22. Johansson MW, Mosher DF. Integrin activation states and eosinophil recruitment in asthma. *Front Pharmacol*. 2013;4:33.
23. Johansson MW, Annis DS, Mosher DF. $\alpha M \beta 2$ integrin-mediated adhesion and motility of IL-5-stimulated eosinophils on periostin. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;48(4):503-10.
24. Postma DS, Timens W. Remodeling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2006;3(5):434-9.
25. Trejo Bittar HE, Yousem SA, Wenzel SE. Pathobiology of severe asthma. *Annu Rev Pathol*. 2015;10:511-45.

Disertacijos

26. **Murphy DM, O'Byrne PM.** Recent advances in the pathophysiology of asthma. *Chest.* 2010;137(6):1417-26.
27. **Boyce JA, Barrett NA.** Cysteinyl leukotrienes: an innate system for epithelial control of airway smooth muscle proliferation? : American Thoracic Society; 2015.
28. **Cheng W, Yan K, Xie L-Y, Chen F, Yu H-C, Huang Y-X, et al.** MiR-143-3p controls TGF- β 1-induced cell proliferation and extracellular matrix production in airway smooth muscle via negative regulation of the nuclear factor of activated T cells 1. *Mol Immunol.* 2016;78:133-9.
29. **Mesnil C, Raulier S, Paulissen G, Xiao X, Birrell MA, Pirotin D, et al.** Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset. *J Clin Investig.* 2016;126(9):3279-95.
30. **Rosenberg HE, Dyer KD, Foster PS.** Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(1):9-22.
31. **Marichal T, Mesnil C, Bureau F.** Homeostatic eosinophils: characteristics and functions. *Front Med (Lausanne).* 2017;4:101.
32. **Weller PF, Spencer LA.** Functions of tissue-resident eosinophils. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(12):746-60.
33. **White SR, Kulp GV, Spaethe SM, Van Alstyne E, Leff AR.** A kinetic assay for eosinophil peroxidase activity in eosinophils and eosinophil conditioned media. *J Immunol Methods.* 1991;144(2):257-63.

Epigenetic mechanisms of asthma pathogenesis

EPIGENETINIAI ASTMOS PATOGENEZĖS MECHANIZMAI

PAULINA MALAKAUSKAITĖ¹, EGLĖ JURKEVIČIŪTĖ², KRISTINA ŠNIPAITIENĖ^{1,3},
ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS²

¹Institute of Biomedical Sciences, Life Sciences Center, Vilnius University; ²Laboratory of Pulmonology, Department of Pulmonology, Lithuanian University of Health Sciences; ³Laboratory of Genetic Diagnostics, National Cancer Institute

Summary. Asthma is a heterogeneous chronic lung disease linked with increased inflammation and reversible obstruction of the airways. The immunoregulatory pathways underlying asthma include many different cell types, and eosinophils are major effector cells in disease pathogenesis. Their development is regulated and dependent on epigenetic factors that are still incompletely understood. Because epigenetic mechanisms are related to the effects of the environment, such as air pollution and tobacco smoke, their contribution to asthma pathogenesis is under active investigation. Asthma does not follow Mendelian patterns of inheritance; consequently, mechanisms are more complex, and the genes responsible for disease inheriting remain unidentified. Asthma epigenetics covers the transient and heritable phenotypic changes in gene expression without directly changing the DNA sequence. Three epigenetic mechanisms are distinguished, including DNA methylation, histone modifications, and the expression of non-coding RNAs. DNA methylation sites are notably altered in the airway epithelium, in turn contributing to immune responses and eosinophil activation. Histone modifications suggest themselves as regulators for the relief of asthma symptoms. Non-coding RNA-based therapies show a promising diagnostic potential to indicate severity, heterogeneity, and phenotype of asthma. Identification of altered methylation sites, significant changes in histone status, and non-coding RNA signatures in asthma patients can provide potential biomarkers of new therapeutic options for the treatment. For this reason, asthma epigenetics has recently attracted substantial interest. In this scientific review, the main focus will be on the current understanding of connections between epigenetic mechanisms and asthma pathogenesis.

Keywords: DNA methylation, histone modification, non-coding RNA, asthma, epigenetics.

Santrauka. Astma yra heterogeninė lėtinė plaučių liga, susijusi su padidėjusiu uždegimu ir kvėpavimo takų obstrukcija. Į astmos imunoreguliacijos kelius yra įsitraukę daug skirtingų ląstelių tipų, tačiau eozinofilai yra laikomi pagrindinėmis uždegiminėmis ląstelėmis, dalyvaujančiomis ligos patogenezėje. Jų raida yra reguliuojama ir priklauso nuo epigenetinių veiksnių, kurie vis dar nėra visiškai suprantami. Kadangi epigenetiniai mechanizmai yra susiję su aplinkos poveikiu, paveldėjimui, oro tarša ir tabako dūmais, jų indėlis į astmos vystymąsi yra aktyviai tiriamas. Astma neatitinka Mendelio nustatytų paveldimumo dėsnų, todėl mechanizmai yra sudėtingesni, o genai, atsakingi už ligos paveldėjimą, lieka nenustatyti. Astmos epigenetika apima trumpalaikius ir paveldimus fenotipinius genų raiškos pokyčius, tiesiogiai nepakeičiant DNR sekos. Išskiriami trys epigenetiniai mechanizmai, įskaitant DNR metilinimą, histonų modifikacijas ir nekoduojančiųjų RNR raišką. DNR metilinimo pokyčiai yra ypač dažnai aptinkami kvėpavimo takų epitelyje, todėl yra svarbūs imuniniam atsakui ir eozinofilų aktyvacijai. Histonų modifikacijos atlieka reguliacinį vaidmenį ir gali būti žymuo, prisidedantis prie astmos simptomų palengvinimo. Nekoduojančiomis RNR pagrįsta diagnostika leidžia nustatyti astmos sunkumą, heterogeniškumą ir fenotipą. Pakitusio DNR metilinimo nustatymas, reikšmingos histonų modifikacijos ir nekoduojančiųjų RNR genų raiškos pokyčiai astma sergančiuose pacientuose gali suteikti naujų terapinių žymenų. Dėl šios priežasties astmos epigenetika pastaruoju metu sulaukia didelio susidomėjimo. Pagrindinis šios mokslinės apžvalgos dėmesys bus skiriamas supratimui apie epigenetinių mechanizmų sąsajas su astmos patogenezė.

Reikšminiai žodžiai: DNR metilinimas, histonų modifikacijos, nekoduojančiosios RNR, astma, epigenetika.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.710>

INTRODUCTION

Epigenetic regulation includes heritable changes in gene expression that occur without changes in DNA sequences and may partially mediate the complex gene-by-environment interactions leading to asthma

development. Asthma is a heterogeneous chronic respiratory disease affecting over 340 million individuals worldwide, with different clinical phenotypes cause hypersensitivity of the airways. It is characterized by dyspnoea, wheezing, and cough symptoms. The disease

Moksliniai darbai ir apžvalgos

severity is determined by exposure to irritants, smoking, medication, exercise, or viral respiratory infections [1].

Heritability of asthma has been established in many genetic studies, and it is already known that many genes with minor effects contribute to pathogenesis [2]. However, it is also clear that only genetic elements are not responsible. Monozygotic and dizygotic twin studies showed that genetic and environmental factors are important to asthma pathogenesis [3]. Environmental factors determine the epigenetics of asthma, and at the same time, it indicates the development and phenotype of the disease through gene expression [4].

Three epigenetic mechanisms are distinguished, including DNA methylation, histone modifications, and the expression of non-coding RNAs. DNA methylation represses gene transcription by coordinately regulating the chromatin status and hindering the transcription factors to bind either a gene's promoter or enhancer. Histones are associated with transcriptional repression at the post-translational level. Their modifications change the structure of the histone protein complex and recruit the chromatin remodeling. Non-coding RNAs, interacting with mRNA, modify and regulate gene expression, but differently from histone modifications, at a post-transcriptional level. A wide variety of recent studies have suggested that long non-coding RNAs, microRNAs, small interfering RNAs, and Piwi-interacting RNAs are the most common regulatory RNAs in epigenetic control. This review will concentrate on recent advances of significant asthma heterogeneity. Epigenetic of DNA methylation, histone modifications, and gene expression regulation by non-coding RNAs will be used to frame this discussion.

METHODS

The scientific review provides information from freely available foreign scientific periodicals with a citation rate in the Clarivate Analytics Web of Science, Scopus, and Springerlink databases. The information was collected using National Center for Biotechnology Information (NCBI) PubMed and PMC, Google Scholar, and the Wiley Online Library search systems. The following keywords

were used in order to collect the information: asthma, asthma epigenetic, epigenetic mechanisms, DNA methylation, histone modifications, non-coding RNA, long non-coding RNA, microRNA, small interfering RNA, Piwi-interacting RNA.

Asthma-related key environmental factors

It is now well known that epigenetic mechanisms are important to control the cell cycle and gene expression pattern during the development in response to biological or environmental changes. Altered histone modification, aberrant DNA methylation, specific micro-RNA expression, and other chromatin alterations result in a complex early-life reprogramming of immune T-cell response, macrophage activation, dendritic cell function, and disruption of airway epithelial barrier that delivers asthma risk and severity in later life. The rapid and higher prevalence of asthma in the past few decades, especially in developed countries where asthma is the most common work-related disease, suggests that the surrounding environment is important for developing the disease. It is considered that most asthma cases originate at an early age, so they belong to a list of complex diseases that are "programmed" by specific factors in early life [5].

In the prenatal period, when airways grow, and the immune system develops, maternal exposure to certain nutritional factors, dust mites, viral infection, and tobacco smoke increases the risk of asthma in offspring (Figure 1). Severe viral infections of the lower respira-

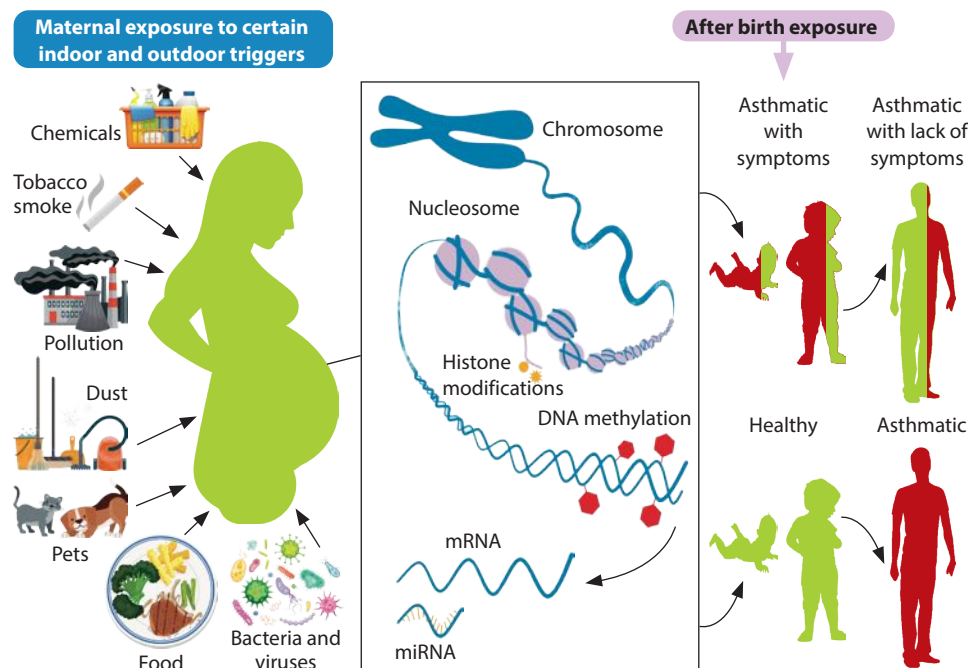


Figure 1. Epigenetic regulation after early environmental exposures

In the prenatal period, triggers such as tobacco smoking, dust, air pollution, nutritional factors, pets, and viral infection can increase the risk of asthma in offspring. Environment exposure can also affect a person after birth. For those who felt symptoms in adults, they may have less symptoms in adulthood. While those who were healthy children may become adults with asthmatic symptoms.

tory tract or exposure to air irritants increase the risk of asthma in early childhood, especially in the first years of life. It has been shown that outdoor microbial and viral pathogens, pollens, molds, airborne particulates, ozone, diesel exhaust particles, cold air, and humidity can cause or exacerbate asthma [2, 6]. Moreover, indoor allergens, such as dust mites, pets, mice, cockroaches, wood, particles generated from indoor combustion of tobacco, biological agents (indoor endotoxin), 1,3- β -glucans from molds, and gram-positive bacteria are also signs that can also contribute to the development of asthma [6]. Other asthma affecting factors are a variety of nutrients, such as omega-6 polyunsaturated fatty acids, vitamins C and D, saturated fat, β -carotene, selenium, sodium, and magnesium [7]; and pharmaceuticals, such as paracetamol [8]. Beyond question, variable asthma history (i.e., symptoms incidence and remission) may be the result of epigenetic regulation after early or subsequent environmental exposure. In early life, all these asthma triggers have an obvious reprogramming effect on immature airways and can lead to a change in asthma risk at a later age.

Overview of Epigenetic Mechanisms

Epigenetics covers the transient and heritable changes to gene expression in the setting of non-coding changes in the genome without affecting the DNA sequence. Epigenetic mechanisms have recently attracted substantial attention. They could significantly impact asthma-related immune and regulatory pathways, act as a potential biomarker and provide new therapeutic targets for the treatment of asthma. Asthma's epigenetic includes three major mechanisms: DNA methylation, histone modifications, and non-coding RNA expression. A visual scheme of the primary mechanisms is shown in Figure 2. Without these three main mechanisms, several chemical processes also may have epigenetic effects on DNA and protein modifications in asthma – phosphorylation, acetylation, and ubiquitin group transfer [9].

Epigenetics regulate immune response related to asthma

Asthma is a multifactorial disease, and epigenetics plays an important role in the regulation of immune response. Naive CD4+ T lympho-

cytes differentiation into the Th2 cells and expression of cytokines interleukin 4 (IL-4), IL-5, and IL-13 are essential for asthma pathogenesis. These cytokines recruit and activate allergic response primary effector cells, such as eosinophils and mast cells [10, 11]. Naive CD4+ T lymphocytes can differentiate into a Th2 lineage, depending on antigen-presenting cells, cytokine environmental, and antigen amounts. In naive CD4+ cells, the cytosine-phosphate-guanine (CpGs) in the promoter regions are methylated in the IL-4 genes. IL-4 is the major cytokine that affected the differentiation of naive CD4+ T lymphocytes into the Th2 lineage. The CD4+ T lymphocytes stimulation by allergen challenge enhances demethylation at the IL-4 locus, and the magnitude of methylation loss at the IL-4 promoter gene positively correlates with IL-4 expression [12].

Emerging evidence suggests that histone deacetylases (HDACs) maintain the balance of pre-established TH1-like and TH2-like responses in human T-cells. Interestingly, the HDAC inhibitor trichostatin A (TSA) triggered total cell hyperacetylation, resulting in increased Th2-related IL-5 and IL-13 cytokine expression. It was revealed that TSA treatment shifted the Th1:Th2 ratios 3 to 8-fold, skewing responses more a Th2-like phenotype [13]. Simultaneous activation

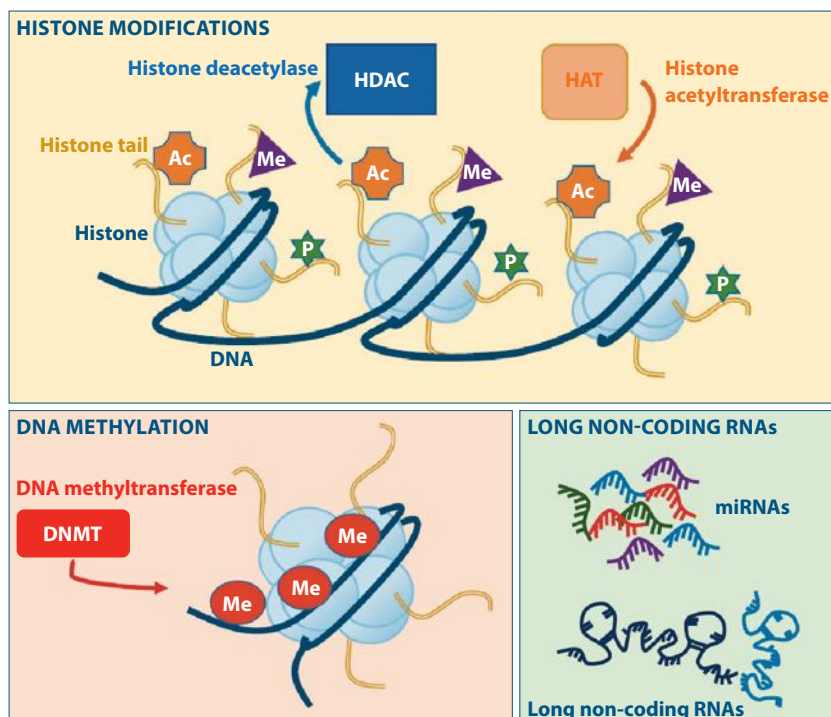


Figure 2. Three main epigenetic mechanisms: histone modifications, DNA methylation and non-coding RNAs.

DNA methylation occurs by adding a methyl group to the C-5 position of cytosine residues, primarily on the CpG site where a guanine nucleotide follows a cytosine nucleotide. Histones have N-terminal tails and globular domains, which may undergo post-translational modification, such as methylation, acetylation, sumoylation, phosphorylation, and ubiquitination. Non-coding RNAs are described as RNA molecules that are not coding proteins but are able to regulate gene expression by interacting with mRNA, histone-modifying complexes, DNA methyltransferases.

Moksliniai darbai ir apžvalgos

of T cells receptor (TCR) and IL-4 imbalanced Th2 homeostasis, which leads to the signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) phosphorylation and expression of GATA-binding protein 3 (GATA-3) and Th2 cytokines [12].

In general, inflammation is related to the activation of many major signaling pathways, particularly nuclear factor kappa B (NF- κ B), which is activated in all asthma types, especially in severe asthma [14]. In the human airway smooth muscle cells, tumor necrosis factor α (TNF- α)-stimulated release of eotaxin is related to eotaxin gene promoter region histone H4 acetylation and NF- κ B binding [15]. Nevertheless, IFN- γ is able to significantly inhibit TNF- α -stimulated expression of the NF- κ B-sensitive genes IL-8, IL-6, and eotaxin. However, HDAC inhibitor TSA prevented the effects of IFN- γ on TNF- α -induced gene expression. Consequently, IFN- γ is closely related to HDAC activity or expression in airway smooth muscle cells [16]. This evidence suggests that inflammatory environmental stimuli can lead to Th2 skewing and increased inflammatory gene expression due to changes in histone acetylation status.

Altered DNA methylation

DNA methylation is the first epigenetic mechanism to be extensively studied in allergic diseases. It is the first identified and the most studied epigenetic alteration in human asthma due to the close relationship between DNA methylation and gene expression. It is a heritable epigenetic mechanism, catalyzed by DNA methyltransferases (DNMTs), that occurs by the transformation of a methyl group onto the C5 position of the cytosine to form 5-methylcytosine (5mC) [17]. The presence of 5mC in different regions in the genome is associated with gene expression changes under the control of transcription factors [18]. CpG islands (CGI) are DNA-enriched segments in CG sequences; these CG-rich segments are often located near the gene transcription start site (TSS). Thus, changes in methylation of CGI are associated with gene expression activation or inhibition. In most cases, CGI is related to gene repression [19]. DNA methylation inhibits gene transcription by altering DNA conformation, stability, and activity, but it does not change DNA sequence [20].

The exploratory study revealed that prenatal exposure to the traffic-related polycyclic aromatic hydrocarbons is associated with umbilical cord white blood cell DNA methylation of acyl-CoA synthetase long-chain family member 3 (*ACSL3*) 5'-CGI and asthma symptoms in children up to age 5. It is suggested that methylated *ACSL3* 5'-CGI in umbilical cord white blood cell DNA may be a potential biomarker for environmentally-related asthma [21]. Another study showed that in-

creased air pollution is associated with impaired Treg cell function. It occurs because of increased hypermethylation of CGI in the forkhead box transcription factor 3 (*Foxp3*) locus. Whereas Treg cells ensure protection from allergic diseases such as asthma by inhibiting IgE production in response to allergen exposure and proximal pathways of allergic sensitization [22].

Although DNA methylation in adults with asthma has been poorly studied, several studies suggest that smoking asthmatics have enhanced protocadherin-20 (*PCDH20*) methylation in sputum cells. Signatures of specific methylation were related to IL-13 response modules, eosinophil counts, fractional exhaled nitric oxide (FeNO), and an inhaled corticosteroid [23].

Since the airway epithelium has direct contact with antigens and bearing in mind that epigenetic changes are sensitive to environmental insults, DNA methylation may participate in the immune response. Bronchial epithelium cells were selected to investigate the methylation and expression levels of IL33 and two of its downstream targets – *IL1RL1* and *CCL26*. It was reported that the gene of IL33 and *CCL26* are less methylated in asthmatic bronchial epithelium cells than in bronchial epithelium cells in healthy individuals [24]. As the *CCL26* methylation level is reduced, the expression of this IL33 target is increased. Consequently, it contributes to asthma exacerbation and correlates with increased blood eosinophil count.

A large-scale epigenome-wide association study (EWAS) has uncovered several epigenome-wide methylation variants related to childhood-onset asthma with a reason to answer a question of how and which cell activity is affected by DNA methylated sites and whether these methylation models are already present at birth or develop during childhood. This meta-analysis identified 14 reduced DNA methylation CGI associated with childhood (4–16 years) asthma, but not at birth. Activation of purified eosinophils was increased, emphasizing that they are epigenetically altered in asthma [25]. This eosinophil methylation level could be used as a diagnostic tool for identifying children with asthma. This study also indicated that in the whole-blood CGI effector, memory CD8 T cells and natural killer cells activity was also increased, concurrent – the number of naive T cells was reduced [26].

Another valid research ascertained a decrease in expression of *ITGB4* by DNA methylation in asthmatic airway epithelial cells. Both in humans and mice, CGI is contained in the proximal promoters and exons of *ITGB4*, and for this reason, the asthma mice model was chosen for further indication. Results have demonstrated that the expression along with hypermethylation of *ITGB4* was strongly downregulated [27]. It can be related to the early identification of the

disease and a change of asthma phenotype. Besides, detection of DNA methylation in the specific CGI (chr17:73717720 and chr17:73717636) suggested it as a blood marker for asthma identification between asthmatics and healthy individuals.

Altered histone modification

Histones are the main proteins, forming a DNA-protein complex, and modifications are essential epigenetic alterations. This association between histones and DNA is critical for DNA packaging, ensuring genome stability, and regulating gene expression. Most epigenetic research in asthma has been focused on histone acetylation and methylation; meanwhile, sumoylation, phosphorylation, citrullination, and ubiquitination are less investigated. Histone acetylation plays a key role in gene transcription and protein expression. It occurs when the lysine residues within the N-terminal tail are acetylated, and it is mediated by two main histone modifications enzymes – acetyltransferase (HAT) and histone deacetyltransferase (HDAC). Histone methylation is more complex. The modification comprises lysine and arginine residues, which occur within the histone N-terminal tail. Lysine residues can be mono-, di- or trimethylated, while arginine residues mono- or dimethylated [28]. This is important for gene transcription because depending on which amino acids are methylated and how many methyl groups are involved, the transcription of genes can either increase or decrease.

In present studies, enzyme histone acetyltransferase p300 (p300 HAT) transfection induced the acetylation of histone H3 in asthmatic lung tissues and regulated the expression of orosomucoid 1-like protein 3 (ORMDL3) gene [29]. *ORMDL3* correlates with an increased quantity of eosinophils, CD4⁺ and T helper 2 (Th2) cytokines [30]. p300 HAT has also been reported as a promoter at the *VEGF* [31]. Increased secretion of *VEGF* from asthmatic airway smooth muscle cells contributes to the bronchial vascular remodeling. Aberrantly high levels of *VEGF* occur because of a transcription repression signal, which is dependent on histone methyltransferase G9A and histone H3K9 trimethylation. Meanwhile, in non-asthmatics, the *VEGF* promoter complex was repressed [32].

In patients with asthma, IL-8 or chemokine (C-X-C motif) ligand 8 (CXCL8) is expressed in the airway smooth muscle cells and contributes to airway remodeling. Children with severe asthma who constantly are in a smoking environment have a higher concentra-

Table 1. Summary of DNA methylation

DNA methylation	Relation to asthma	References
Methylated <i>ACSL3</i> 5'-CGI in umbilical cord white blood cell DNA	Related to asthma symptoms in children up to age 5; May be a potential biomarker for environmentally-related asthma	[21]
Increased hypermethylation of CGI in the <i>Foxp3</i> locus	Is associated with impaired Treg cell function in the lungs, which can lead to worsening asthma pathology	[22]
Enhanced <i>PCDH20</i> methylation in sputum cells	Related to IL-13 response modules, eosinophil counts, fractional exhaled nitric oxide (FeNO), and an inhaled corticosteroid	[23]
The gene of IL33 and <i>CCL26</i> are less methylated in asthmatic bronchial epithelium cells than in healthy individuals	Contributes to asthma exacerbation and correlates with increased blood eosinophil count	[24]
DNA methylation level of purified eosinophils	Eosinophil methylation level could be used as a diagnostic tool for identifying children with asthma	[25]
Downregulated expression and hypermethylation of <i>ITGB4</i> in asthmatic airway epithelial cells than in healthy individuals	Blood marker for early asthma identification and phenotype determination	[27]

tion of CXCL8. As a consequence, passive smoking impaired histone deacetylase-2 (HDAC2) activation via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) (PI3K/AKT) pathway [33]. Although this study has been done in alveolar macrophages, it is relevant to airway smooth muscle epithelium as well. In asthmatic airway smooth muscle cells it was observed that acetylation of histone H3, histone H3K18, and binding of p300 HAT were increased compared with healthy donor cells. Methylation in CXCL8 showed no differences [34].

Airway inflammation, hyperresponsiveness, also higher eosinophil and IgE levels may be affected by histone H3 acetylation and histone H3K4 methylation. It occurs because of the deletion of the Th2 locus control region, which regulates the genes of Th2 cytokines [35]. Less than 2.5 micrometers in diameter particle matters and cold stress induce acetylation of H3K9 and H314, leading to an increased percentage of Th2 cells and H3K9/H3K14 hyperacetylation in IL-4 gene promoter. Likewise, a significant impact of p300 HAT and HDAC1 was detected in CD4⁺ cells. Therefore it might contribute to histone modifications combined effects [36]. It is previously known that *GATA3* and *STAT6* are required to induce Th2 cell differentiation [37, 38], but *de novo* DNA methyltransferase-3A (DNMT3A) is also identified as a regulator of Th2 cell expression and epigenetic modifier. The deficiency of DNMT3A correlated with a decrease in DNA methylation and changes in the histone H3K27 at the IL-13 gene locus [39]. According to these observations, it can be noted that DNMT3A is also necessary for the

Moksliniai darbai ir apžvalgos

regular expression of IL-13. In general, several histone modifications regulate many asthma-related genes that initiate and maintain the symptoms of asthma. Table 2 summarizes the histone modifications and their association with this disease.

Non-coding RNA

Non-coding RNAs (ncRNA) are functional RNA molecules transcribed from DNA but do not encode proteins. Mainly it includes long non-coding RNAs (lncRNAs) and small RNAs such as microRNAs (miRNAs), small interfering RNAs (siRNAs), and piwi-interacting RNAs (piRNAs), which play a vital role in the pathogenesis and regulation of respiratory diseases, such as asthma [41].

Long non-coding RNA

Long non-coding RNA (lncRNA) is described as a large class of transcribed RNA molecules more than 200 bp in length [42]. Dysregulation of differentially expressed lncRNA was studied and associated with asthma. 159 lncRNAs were differentially expressed and found in bronchial mucosa samples obtained from asthmatic patients compared with samples received from healthy controls. Results demonstrated that 8 of 159 lncRNAs interacted with 52 differentially expressed asthma-related genes. The expression level of one of lncRNA, ZNF667 antisense RNA 1 (ZNF667-AS1), was downregulated in asthma patients [43]. Therefore, it might play an important role in the pathogenesis of asthma, but considering that these studies are performed recently, further investigation of ZNF667-AS1 is needed.

Other studies have shown that the lncRNA nuclear-enriched abundant transcript 1 (NEAT1) relative expression was increased in patients with asthma both in disease exacerbation and remission. In patients with asthma, *NEAT1* relative expression was positively correlated with pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , and IL-17) during the exacerbation, while negatively correlated with anti-inflammatory cytokine [44]. It is already known that the upregulation of *NEAT1* increased serum level of reactive oxygen species (ROS) [45]; due to this, it can be concluded that *NEAT1* might stimulate asthma exacerbation, leading to a high degree of airway obstruction and worsen immune response [46].

Airway smooth muscle cell proliferation and migration in asthma depend on lncRNA Transcription Factor 7 (TCF7), which expression is controlled by Translocase Of Inner Mitochondrial Membrane Do-

Table 2. Asthma-related histone modifications

Histone modification/enzyme	Gene(s) or systems impacted	Relation to asthma	References
p300 HAT	ORMDL3	p300-mediated HAT modulates the expression of ORMDL3, thereby improving the airway remodeling in asthma	[29]
H3K9me3	VEGF	VEGF hypersecretion activates H3K9me3 in asthmatic bronchial smooth muscle cells	[32]
HDAC2	PI3K-AKT signaling pathway	HDAC2 function is impaired by passive smoking	[33]
H3ac, H3K18ac	CXCL8	Acetylation of H3ac, particularly H3K18, was increased in asthmatic airway smooth muscle cells CXCL8 promoter	[34]
H3ac, H3K4me	Th2 cytokine genes	Deletion of the Th2 locus control region causes a loss of general histone H3 acetylation, H3K4 methylation, and demethylation	[35]
H3K9ac, H3K14ac	CD4+ cells	Acetylation of H3K9 and H3K14 is increased in IL-4 gene promoter during particle matters exposure and cold stress on asthma	[36]
H3K27ac	IL-13	Loss of DNMT3 leads to decreased DNA methylation and changes in the H3K27ac status at the IL-13 locus	[39]
Histone hyperacetylation	IL-13, IL-5	Increases Th2-related cytokines expression	[40]

main Containing 1 (TIMMDC1) via AKT signaling pathway. The first observation was that lncTCF7/TIMMDC1/AKT regulatory mechanism has an epigenetic impact on the development and progression of asthma [47]. Also, the first was indicated on CD4⁺ T cells with next-generation sequencing in acute asthma patients. 36 differentially expressed lncRNAs were upregulated, and 98 lncRNAs were downregulated compared with controls. The measurements were done by fluorescence *in situ* hybridization and decreased expression of lncRNA fantom3_9230106C11 was observed [48]. It is previously known that CD4⁺ T cells are responsible for IgE-mediated sensitization, airway hyperreactivity, and eosinophilia promotion [49]. These described studies assessed the significance of altered lncRNA expression and provided novel evidence. Some of this evidence is new, and more detailed analysis is necessary. Nevertheless, the use of lncRNA could reverse asthma progression and therefore be provided as biomarkers and therapeutic targets.

MicroRNA

miRNA is actively involved in the normal and pathological cellular responses. miRNA are small, single-

stranded, and highly conserved RNA molecules that typically consist of 18-25 nucleotides in length [50]. Comparison of miRNA profiles in normal lung tissue and tissue from asthma patients indicated substantial differences. These differences were evaluated by measuring expression levels of miRNA-21 and miRNA-155 and correlating them with serum IL-4. It was found that levels of both miRNA-21 and miRNA-155 were considerably increased in asthmatic patients than in healthy people. Moreover, serum IL-4 was found as the only essential predictor for the expression of miRNA-21, and meanwhile, asthma the only significant factor for the expression of miRNA-155 [51]. Besides, similar research was conducted by Rodrigo-Munoz with colleagues, which have recently published that expression levels of miRNA-21 in blood eosinophils were higher in asthmatics versus healthy controls [52].

miRNA-1165-3p is also considered as a potential non-invasive biomarker for the clinical management of asthma. First of all, the expression of miRNA-1165-3p was significantly elevated in asthmatics compared to healthy patients. In a comparison of asthma severity, expression of miRNA-1165-3p was higher in patients with severe and acute asthma [53]. Accordingly, miRNA-1165-3p is assessed as an indicator of asthma severity, phenotype determination, and heterogeneity of the disease.

Several miRNAs are associated with smooth muscle cell function and proliferation and are implicated with severe asthma. For instance, miRNAs let-7 family in human and animal is associated with TH2 inflammation modulation [54]; miR-221 controls increased airway smooth muscle cell proliferation in severe asthma patients [55]; miR-146a/b and miR-28-5p downregulation lead to the circulating CD8+ T cells activation in severe asthma [56]; and miR-629-3p, miR-223-3p, and miR-142-3p is associated with severe neutrophilic asthma [57]. All these observations about the role of many miRNAs in asthma emphasize their effects on inflammatory responses, cell function, or disease severity.

Small interfering RNA

Small interfering RNAs (siRNAs) are double-stranded RNA molecules of 21–25 base pairs involved in the RNA interference pathway. siRNA is one of the major targets in RNA-induced silencing complex (RISC), essential in gene regulation [58].

In the pathogenesis of asthma, Th2 cells play a crucial role by producing pro-

inflammatory cytokines (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-25) [59]. The secretion of these interleukins is promoted by *GATA3*, which can be therapeutic down-regulated by post-transcriptional gene silencing. In this instance, the downstream release of all Th2 cytokines would be prevented in the same way.

Consequently, siRNA-based therapy is a potential tool to target any single mRNA and intermediate its downregulation [60]. This strategy has been proposed recently, so no further research has been published yet. Targeting *GATA3* in activated Th2 cells by RNA interference could be a promising treatment of asthma. Promising results are expected in the future, as no significant research has been conducted up to date.

Piwi-interacting RNA

The largest group of small non-coding RNAs (26–31 base pairs) [61], recently found in human CD4+ cells [62], are Piwi-interacting RNA (piRNA). piRNA interacts with piwi-subfamily Argonaute proteins and forms RNA-protein complexes [61].

Inhibition of piRNA-30840 was measured on IL-4 in the samples of asthma patients and normal controls. Obtained results demonstrated that piRNA30840

Table 3. Overview of non-coding RNA's

Non-coding RNA	Relation to asthma	References
Long non-coding RNA		
lncRNA ZNF667-AS1	A potential identification biomarker in bronchial mucosa samples	[43]
lncRNA NEAT1	Might stimulate asthma exacerbation	[46]
lncRNA TCF7	An indicator for airway smooth muscle cell proliferation and migration	[47]
MicroRNA		
miRNA-21 and miRNA-155	Expression level differences indicate in asthma patients	[51]
miRNA-1165-3p	A potential non-invasive biomarker for the clinical management of asthma	[53]
miRNAs let-7	Associated with Th2 inflammation modulation	[54]
miR-221	Controls increase airway smooth muscle cell proliferation in severe asthma	[55]
miR-146a/b and miR-28-5p	Downregulation leads to the circulating CD8+ T cells activation in severe asthma	[56]
miR-629-3p, miR-223-3p, and miR-142-3p	Associated with severe neutrophilic asthma	[57]
Small interfering RNA		
siRNAs	A potential tool to target any single mRNA and intermediate its downregulation	[60]
Piwi-interacting RNA		
piRNA-30840	Down-regulated IL-4 expression and CD4 T-lymphocytes development	[62]

Moksliniai darbai ir apžvalgos

down-regulated IL-4 expression and CD4 T-lymphocytes development through sequence-specific binding to pre-mRNA intron [62]. These findings revealed a new possible gene expression pathway for piRNA, and interestingly, this inhibition suggested a new mechanism during pathologic asthma conditions. Detailed piRNA studies influencing the pathogenesis of asthma have not been performed yet.

PERSPECTIVES AND CONCLUSIONS

Epigenetics is a new field for research of asthma and allergies that has developed strongly in recent decades. Epigenetics helps to provide novel perspectives on the disease treatment and understanding of the complexities mechanisms. Moreover, it provided an implication of gene-environment interaction in the pathogenesis of asthma.

At the cellular level, altered DNA methylated sites are related to eosinophil activation and increased quantity. To investigate the eosinophils' recruitment in asthma, it is necessary to analyze methylation levels in the asthmatic bronchial epithelial cells compared with healthy individuals. Numerous histone modifications and their interactions with asthma-related genes are important biological markers for the immune response and relief of asthma symptoms. Studies of non-coding RNA expression are novel but promising in the future; for instance, an indication of lncRNAs different expression on CD4+ T cells and siRNA-based therapy by downregulating *GATA3* on Th2 cells. A better understanding of these and other mechanisms would bring new insights into new therapeutics development for asthma. These observations need to be translated into better prediction models, developing biomarkers, and therapies targeting dysregulated pathways.

A significant limitation to our current understanding of asthma is the lack of studies in adults, the effect of histone modifications in asthma, environmental data, traditional gene-by-environment interactions, environment-by-environment interactions, effects of birth order, other factors such as obesity, and the extent of associations with specific asthma phenotypes. Despite these limitations, it is promised in the future that epigenetics will help us understand the theoretically avoidable environmental disease. A better understanding of asthma pathogenesis would help better assign an asthma patient to the predominant asthma phenotype, thereby improving the course of the disease and reducing adverse drug reactions. Data integration of omics (genome-wide variation, transcriptome, methylome, and microRNAs) in well-characterized asthma risk cohorts can improve our understanding of these associations.

*Gauta 2021 03 15
Priimta 2021 05 14*

REFERENCES

1. Kudo M, Ishigatsubo Y, Aoki I. Pathology of asthma. *Front Microbiol.* 2013;4:263.
2. Von Mutius E. Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123(1):3-11.
3. Los H, Postmus P, Boomsma D. Asthma genetics and intermediate phenotypes: a review from twin studies. *Twin Res.* 2001;4(2):81-93.
4. Alizadeh Z, Mortaz E, Adcock I, Moin M. Role of epigenetics in the pathogenesis of Asthma. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2017:82-91.
5. Ho S-M. Environmental epigenetics of asthma: an update. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(3):453-65.
6. Peden D, Reed CE. Environmental and occupational allergies. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2):S150-60.
7. Kim JH, Ellwood PE, Asher MI. Diet and asthma: looking back, moving forward. *Respir Res.* 2009;10(1):1-7.
8. Nuttall SL, Langford NJ, Kendall MJ. Frequent paracetamol use linked to asthma. *Lancet.* 2000;355(9215):1648-9.
9. Gomez JL. Epigenetics in asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2019;19(12):1-6.
10. Van Panhuys N, Le Gros G, McConnell M. Epigenetic regulation of Th2 cytokine expression in atopic diseases. *Tissue Antigens.* 2008;72(2):91-7.
11. Kumar RK, Hitchins MP, Foster PS. Epigenetic changes in childhood asthma. *Dis Model Mech.* 2009;2(11-12):549-53.
12. Kwon NH, Kim JS, Lee JY, Oh MJ, Choi DC. DNA methylation and the expression of IL-4 and IFN- γ promoter genes in patients with bronchial asthma. *J Clin Immunol.* 2008;28(2):139-46.
13. Su R-C, Becker AB, Kozyrskyj AL, HayGlass KT. Epigenetic regulation of established human type 1 versus type 2 cytokine responses. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(1):57-63. e3.
14. Caramori G, Oates T, Nicholson AG, Casolari P, Ito K, Barnes PJ, et al. Activation of NF- κ B transcription factor in asthma death. *Histopathology.* 2009;54(4):507-9.
15. Nie M, Knox AJ, Pang L. β 2-Adrenoceptor agonists, like glucocorticoids, repress eotaxin gene transcription by selective inhibition of histone H4 acetylation. *J Immunol.* 2005;175(1):478-86.
16. Kslacy S, Tliba O, Baidouri H, Amrani Y. Inhibition of tumor necrosis factor- α -inducible inflammatory genes by interferon- γ is associated with altered nuclear factor- κ B transcription and enhanced histone deacetylase activity. *Mol Pharmacol.* 2007;71(2):609-18.
17. Robertson KD. DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet.* 2005;6(8):597-610.
18. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology.* 2013;38(1):23-38.
19. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):484-92.
20. Wang S, Wu W. DNA methylation alterations in human cancers. *Epigenetics in Human Disease: Elsevier;* 2018. p. 109-39.
21. Perera F, Tang W-y, Herbstman J, Tang D, Levin L, Miller R, et al. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. *PLoS One.* 2009;4(2):e4488.
22. Nadeau K, McDonald-Hyman C, Noth EM, Pratt B, Hammond SK, Balmes J, et al. Ambient air pollution impairs regulatory T-cell function in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(4):845-52. e10.
23. Sood A, Petersen H, Blanchette CM, Meek P, Picchi MA, Belinsky SA, et al. Methylated genes in sputum among older smokers with asthma. *Chest.* 2012;142(2):425-31.
24. Larouche M, Gagné-Ouellet V, Boucher-Lafleur A-M, Larose M-C, Plante S, Madore A-M, et al. Methylation profiles of IL33 and CCL26 in bronchial epithelial cells are associated with asthma. *Epigenomics.* 2018;10(12):1555-68.
25. Xu C-J, Söderhäll C, Bustamante M, Baiz N, Gruziova O, Gehring U, et al. DNA methylation in childhood asthma: an epigenome-wide meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2018;6(5):379-88.
26. Youngblood B, Hale JS, Ahmed R. Memory CD8 T cell transcriptional plasticity. *F1000prime reports.* 2015;7.
27. Wu M, Yang Y, Yuan L, Yang M, Wang L, Du X, et al.

- DNA methylation down-regulates integrin β 4 expression in asthmatic airway epithelial cells. *Clin Exp Allergy*. 2020;50(10):1127-39.
28. **Kaczmarek KA, Clifford RL, Knox AJ.** Epigenetic changes in airway smooth muscle as a driver of airway inflammation and remodeling in asthma. *Chest*. 2019;155(4):816-24.
 29. **Cheng Q, Shang Y, Huang W, Zhang Q, Li X, Zhou Q.** p300 mediates the histone acetylation of ORMDL3 to affect airway inflammation and remodeling in asthma. *Int Immunopharmacol*. 2019;76:105885.
 30. **Miller M, Rosenthal P, Beppu A, Mueller JL, Hoffman HM, Tam AB, et al.** ORMDL3 transgenic mice have increased airway remodeling and airway responsiveness characteristic of asthma. *J Immunol*. 2014;192(8):3475-87.
 31. **Ziel KA, Campbell CC, Wilson GL, Gillespie MN.** Ref-1/Ape is critical for formation of the hypoxia-inducible transcriptional complex on the hypoxic response element of the rat pulmonary artery endothelial cell VEGF gene. *FASEB J*. 2004;18(9):986-8.
 32. **Clifford RL, John AE, Brightling CE, Knox AJ.** Abnormal histone methylation is responsible for increased vascular endothelial growth factor 165a secretion from airway smooth muscle cells in asthma. *J Immunol*. 2012;189(2):819-31.
 33. **Kobayashi Y, Bossley C, Gupta A, Akashi K, Tsartsali L, Mercado N, et al.** Passive smoking impairs histone deacetylase-2 in children with severe asthma. *Chest*. 2014;145(2):305-12.
 34. **Clifford RL, Patel JK, John AE, Tatler AL, Mazengarb L, Brightling CE, et al.** CXCL8 histone H3 acetylation is dysfunctional in airway smooth muscle in asthma: regulation by BET. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;308(9):L962-L72.
 35. **Koh BH, Hwang SS, Kim JY, Lee W, Kang MJ, Lee CG, et al.** Th2 LCR is essential for regulation of Th2 cytokine genes and for pathogenesis of allergic asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(23):10614-9.
 36. **Zhou J, Geng F, Xu J, Peng L, Ye X, Yang D, et al.** PM_{2.5} exposure and cold stress exacerbates asthma in mice by increasing histone acetylation in IL-4 gene promoter in CD4⁺ T cells. *Toxicol Lett*. 2019;316:147-53.
 37. **Zheng W-p, Flavell RA.** The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell*. 1997;89(4):587-96.
 38. **Kaplan MH, Schindler U, Smiley ST, Grusby MJ.** Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for the development of Th2 cells. *Immunity*. 1996;4(3):313-9.
 39. **Yu Q, Zhou B, Zhang Y, Nguyen ET, Du J, Glosson NL, et al.** DNA methyltransferase 3a limits the expression of interleukin-13 in T helper 2 cells and allergic airway inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(2):541-6.
 40. **Bhavsar P, Ahmad T, Adcock IM.** The role of histone deacetylases in asthma and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(3):580-4.
 41. **Huang Z-L, Xiong W-N.** Research progress of non-coding RNA in regulating the function of T cells in asthma. *Sheng li xue bao*: [Acta Physiologica Sinica]. 2020;72(5):586-96.
 42. **Mercer TR, Dingler ME, Mattick JS.** Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet*. 2009;10(3):155-9.
 43. **Liu X, Zhang Y, Jiang H, Jiang N, Gao J.** Integrative analysis of the contribution of mRNAs and long non-coding RNAs to the pathogenesis of asthma. *Mol Med Report*. 2019;20(3):2617-24.
 44. **Li X, Ye S, Lu Y.** Long non-coding RNA NEAT1 overexpression associates with increased exacerbation risk, severity, and inflammation, as well as decreased lung function through the interaction with microRNA-124 in asthma. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(1):e23023.
 45. **Lee H-Y, Lee G-H, Kim H-K, Chae H-J.** Platycodi Radix and its active compounds ameliorate against house dust mite-induced allergic airway inflammation and ER stress and ROS by enhancing anti-oxidation. *Food Chem Toxicol*. 2019;123:412-23.
 46. **Du XJ, Wei J, Tian D, Yan C, Hu P, Wu X, et al.** NEAT1 promotes myocardial ischemia-reperfusion injury via activating the MAPK signaling pathway. *J Cell Physiol*. 2019;234(10):18773-80.
 47. **Fan M, Xu J, Xiao Q, Chen F, Han X.** Long non-coding RNA TCF7 contributes to the growth and migration of airway smooth muscle cells in asthma through targeting TIMMDC1/Akt axis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;508(3):749-55.
 48. **Wang Z, Ji N, Chen Z, Wu C, Sun Z, Yu W, et al.** Next generation sequencing for long non-coding RNAs profile for CD4⁺ T cells in the mouse model of acute asthma. *Front Genet*. 2019;10:545.
 49. **Muehling LM, Lawrence MG, Woodfolk JA.** Pathogenic CD4⁺ T cells in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(6):1523-40.
 50. **Taka S, Tzani-Tzanopoulou P, Wanstall H, Papadopoulos NG.** MicroRNAs in Asthma and Respiratory Infections: Identifying Common Pathways. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2020;12(1):4-23.
 51. **ElKashef SMMAE, Ahmad SE-A, Soliman YMA, Mostafa MS.** Role of microRNA-21 and microRNA-155 as biomarkers for bronchial asthma. *Innate Immun*. 2021;27(1):61-9.
 52. **Rodrigo-Muñoz JM, Cañas JA, Sastre B, Rego N, Greif G, Rial M, et al.** Asthma diagnosis using integrated analysis of eosinophil microRNAs. *Allergy*. 2019;74(3):507-17.
 53. **Wu C, Xu K, Wang Z, Chen Z, Sun Z, Yu W, et al.** A novel microRNA miR-1165-3p as a potential diagnostic biomarker for allergic asthma. *Biomarkers*. 2019;24(1):56-63.
 54. **Polikepahad S, Knight JM, Naghavi AO, Oplt T, Creighton CJ, Shaw C, et al.** Proinflammatory role for let-7 microRNAs in experimental asthma. *J Biol Chem*. 2010;285(39):30139-49.
 55. **Perry MM, Baker JE, Gibeon DS, Adcock IM, Chung KF.** Airway smooth muscle hyperproliferation is regulated by microRNA-221 in severe asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;50(1):7-17.
 56. **Tsitsiou E, Williams AE, Moschos SA, Patel K, Rossios C, Jiang X, et al.** Transcriptome analysis shows activation of circulating CD8⁺ T cells in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(1):95-103.
 57. **Maes T, Cobos FA, Schleich F, Sorbello V, Henket M, De Preter K, et al.** Asthma inflammatory phenotypes show differential microRNA expression in sputum. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1433-46.
 58. **Hannon GJ.** RNA interference. *Nature*. 2002;418(6894):244-51.
 59. **Barnes PJ.** Cytokine modulators as novel therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2002;42(1):81-98.
 60. **Keil TW, Baldassi D, Merkel OM.** T-cell targeted pulmonary siRNA delivery for the treatment of asthma. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2020;12(5):e1634.
 61. **Siomi MC, Sato K, Pezic D, Aravin AA.** PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12(4):246-58.
 62. **Zhong F, Zhou N, Wu K, Guo Y, Tan W, Zhang H, et al.** A SnoRNA-derived piRNA interacts with human interleukin-4 pre-mRNA and induces its decay in nuclear exosomes. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(21):10474-91.

2019 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikose tirtų pacientų, kuriems pirmą kartą diagnozuota obstrukcinė miego apnėja, klinikinių, antropometrinių ir polisomnografijos duomenų analizė

CLINICAL, ANTHROPOMETRIC AND POLYSOMNOGRAPHIC DATA ANALYSIS OF NEW DIAGNOSED OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA PATIENTS IN HOSPITAL OF LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES KAUNAS CLINICS IN 2019

RASA PAULIKAITĖ, SKAIDRIUS MILIAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Tyrimo tikslas. Įvertinti ir palyginti vyrų bei moterų, sergančių obstrukcine miego apnėja (OMA), antropometrinius, klinikinius ir polisomnografijos tyrimo duomenis. **Tyrimo metodika.** Atlikta retrospektyvioji 184 pacientų, kuriems 2019 m. pirmą kartą polisomnografijos tyrimo metu nustatyta OMA, duomenų analizė. Buvo įvertinti pacientų antropometriniai, Epworth'o mieguistumo skalės bei polisomnografijos tyrimo duomenys. Tyrimo dalyviai suskirstyti į grupes pagal lytį ir OMA sunkumą (lengva OMA, kai apnėjos ir hipopnėjos indeksas (AHI) 5–15/val., vidutinio sunkumo OMA – AHI 15–30/val., sunki OMA – AHI daugiau nei 30/val.). **Rezultatai.** Ištirti 184 pacientai, OMA nustatyta 122 vyrams ir 62 moterims. 30 tiriamųjų (16,3 proc.) nustatyta lengva OMA, 55 tiriamiesiems (29,9 proc.) – vidutinio sunkumo, 99 tiriamiesiems (53,8 proc.) – sunki OMA. OMA diagnozuota daugiau vyrų nei moterų, daugiau vyrų (78 pacientai – 78,8 proc.) sirgo sunkia ligos forma ($p < 0,001$). OMA sergančios moterys buvo vyresnės. Sergantieji sunkia OMA buvo vyresni nei sergantieji lengva forma ($p < 0,05$). Svorio, kaklo, pilvo apimties ir kūno masės indekso (KMI) vidurkiai buvo reikšmingai mažesni lengvos bei vidutinės OMA pacientų, palyginus su sunkios OMA pacientais ($p < 0,001$). Vyrų svoris ir kaklo apimtis buvo reikšmingai didesni nei moterų, o pilvo apimtis – nesiskyrė. Lyginant paradoksinį ir lėtąjį miegą, tik vyrams lėtojo miego fazėje nustatytas statistiškai reikšmingai didesnis AHI ir deguonies desaturacijos indeksas skirtingose miego pozicijose. **Išvados.** Sunkia OMA dažniau sirgo vyresnio amžiaus pacientai. Sergančios OMA moterys buvo vyresnės nei vyrai. Vyrai dažniau sirgo sunkia OMA forma. OMA nebuvo susijusi su KMI, bet susijusi su kaklo apimtimi ir kūno svoriu. Pagrindiniai polisomnografijos skirtumai tarp lyčių išryškėjo lėto, o ne paradoksinio miego metu.

Reikšminiai žodžiai: obstrukcinė miego apnėja, polisomnografija, antropometriniai, klinikiniai duomenys.

Summary. The aim of the study. To detect and evaluate the differences of anthropometric, clinical, and polysomnographic data of men and women with obstructive sleep apnea (OSA). **Methods.** A retrospective analysis was performed of data of 184 patients with OSA confirmed by polysomnography in 2019. Anthropometric, Epworth's sleepiness scale and polysomnography data were evaluated. Study participants were divided into groups according to gender and the severity of OSA (mild OSA with apnea and hypopnea index (AHI) 5–15/h, moderate OSA – AHI 15–30/h, severe OSA – AHI more than 30/h). **Results.** 184 patients were included in the study, and OSA was diagnosed for 122 males and 62 females. 30 subjects (16.3%) had mild OSA, 55 (29.9%) – moderate OSA, and 99 (53.8%) – severe OSA. OSA was more prevalent in males than in females. More males (78 patients – 78.8%) had severe disease ($p < 0.001$). The age of female patients with OSA was higher. Patients with severe OSA were older than those who had mild OSA ($p < 0.05$). Weight, neck, waist circumference, and body mass index (BMI) averages were significantly lower in patients with mild to moderate OSA when compared to those with severe OSA ($p < 0.001$). Males weight and neck circumference were significantly higher than females, and waist circumference did not differ. Comparing the differences between rapid eye movement and non-rapid eye movement sleep, specifically male patients in the non-rapid eye movement sleep showed a statistically significantly higher AHI and oxygen desaturation index at different sleep positions. **Conclusion.** Severe OSA was more prevalent in older patients. Females with OSA were older than males. Males were more likely to have a severe form of OSA. There was no correlation between OSA and BMI. A correlation between OSA severity and neck circumference, and body weight was found. The main male and female differences in polysomnography data were found during non-rapid eye movement sleep.

Keywords: obstructive sleep apnea, polysomnography, anthropometric, clinical data.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.711>

IVADAS

Obstrukcinė miego apnėja (OMA) – tai lėtinė liga, kuri pasireiškia pasikartojančiais kvėpavimo sustojimais miego metu (nustatomi ne mažiau kaip penki įvykiai per valandą), kuriuos lydi epizodinės hipoksijos ir miego fragmentacijos, OMA būdingas mieguistumas dažniausiai dieną, darbingumo bei sveikatos pokyčiai. OMA yra viena dažniausių kvėpavimo sutrikimo priežasčių miego metu [1]. Epidemiologinių tyrimų duomenimis, suaugusiųjų OMA paplitimas – 9–38 proc. [2, 3] (taikomi skirtingi diagnostikos kriterijai ir tyrimo metodai). OMA dažniau serga vyrai (13–33 proc.) nei moterys (6–19 proc.) [4]. Sergamumas OMA didėja su amžiumi [5], yra susijęs su nutukimu [6, 7]. Šio tyrimo tikslas – įvertinti ir palyginti vyrų bei moterų, sergančių OMA, antropometrinius, klinikinius ir polisomnografijos tyrimo duomenis.

TYRIMO METODAI

Tyrimui atlikti gautas LSMU Bioetikos centro leidimas (Nr. BEC-LSMU(R)-24). Atlikta retrospektyvioji pacientų, tirtų dėl OMA Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos klinikoje, vienerių metų (nuo 2019 m. sausio mėn. iki gruodžio mėn.) duomenų analizė. Visiems pacientams buvo atliktas visos nakties polisomnografijos tyrimas, duomenys įvertinti specializuotų gydytojų pulmonologų ir saugomi polisomnografijos tyrimo programoje. Pacientų demografiniai duomenys, Epworth'o mieguistumo skalės balai ir antropometriniai duomenys surinkti iš Kauno klinikų elektroninių ligos istorijų. Į tyrimą buvo įtraukti 18 metų amžiaus ir vyresni pacientai, kuriems klinikiniais simptomais ir Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje polisomnografijos tyrimu pirmą kartą nustatyta lengvos, vidutinės arba sunkios OMA diagnozė. Pacientai, kurie vartojo migdomuosius arba raminamuosius vaistus, sergantys centrinės nervų sistemos ligomis, kurių apnėjos ir hipopnėjos indeksas (AHI) polisomnografijos tyrimo metu buvo <5/val. arba kurių miego trukmė šio tyrimo metu buvo mažesnė nei 240 min. (miego efektyvumas – mažiau nei 40 proc.), bei nustatyta mišri arba centrinė miego apnėja, į tyrimą neįtraukti. Tyrimo dalyviai buvo skirstyti į grupes pagal lytį ir OMA sunkumą (lengva OMA, kai AHI 5–15/val., vidutinio sunkumo OMA – AHI 15–30/val., sunki OMA – AHI daugiau nei 30/val.). Analizuoti OMA sergančiųjų demografiniai (amžius, lytis), antropometriniai (ūgis, svoris, KMI, kaklo, pilvo apimtis) duomenys, paciento savarankiškas Epworth'o mieguistumo skalės įvertinimas, visos nakties polisomnografijos duomenys, tokie kaip, miego efektyvumas, prabudimų indeksas (angl. *arousal index*), AHI, vidutinis širdies susitraukimų dažnis, vidutinis kraujo įsotinimas deguonimi (SpO_2), minimalus kraujo įsotinimas deguonimi, deguonies de-

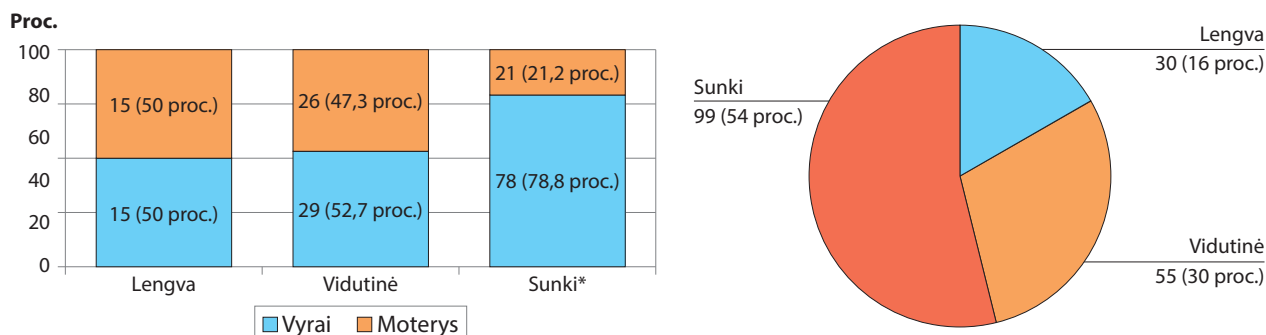
saturacijos indeksas, visų miego pozicijų (ant nugaros, kairio ir dešinio šono) deguonies desaturacijos indeksas, visas miego laikas, užmigimo laikas, visų miego pozicijų (ant nugaros, kairio ir dešinio šono) miego laikas, paradoksinio miego, kitaip vadinamo sapnų miego stadijos arba greitų akių judesių (REM – angl. *rapid eye movement*) ir lėto miego, kitaip vadinamo giliojo miego (nonREM – angl. *non-rapid eye movement*) miego stadijose (toliau – paradoksinis miegas, lėtas miegas): AHI, AHI ant nugaros, AHI gulint ant šonų, širdies susitraukimų dažnis, vidutinis SpO_2 , deguonies desaturacijos indeksas, deguonies desaturacijos indeksas ant nugaros, ant šonų, atitinkamos fazės visas miego laikas, miego laikas ant nugaros, ant šonų.

Statistinė duomenų analizė atlikta personaliniu kompiuteriu naudojant duomenų kaupimo ir analizės „SPSS 23.0“ programą. Rezultatai pateikiami taikant duomenų aprašomąją statistiką: kiekybiniais kintamiesiems – vidurkis, standartinis nuokrypis; kategoriniams duomenims – dažniai ir procentinis pasiskirstymas. Tolydaus kintamojo normalumo prielaida tikrinta naudojant Kolmogorov–Smirnov testą. Jei kintamojo skirstinys tenkino skirstinio normalumo prielaidą dviejų nepriklausomų grupių kiekybiniais kintamiesiems palyginti buvo taikomas Studento t kriterijus, o daugiau nei dviejų grupių palyginimui dispersinė analizė ANOVA (F – Fišerio kriterijus), o daugkartiniams poriniams palyginimams – aposteriorinis Bonferoni testas. Atitinkamai, kai kintamieji netenkino pasiskirstymo normalumo sąlygos, buvo taikomi neparimetriniai metodai: Mann-Whitney U ir Kruskal-Wallis. Kokybinių požymių tarpusavio priklausomumas įvertintas chi kvadrato (χ^2) kriterijumi. Ryšys tarp kiekybinių kintamųjų įvertintas Pearson, Spearman koreliacijos koeficientu, tarp kategori- nių – Spearman arba Kendall koreliacijos koeficientu. Remiantis prognostiniu ROC (angl. *Receiver Operating Characteristics*) mėginu nustatytos slenkstinės kiekybinių kintamųjų reikmės, kurios reikšmingai prognozuoja pacientus, sergančius sunkia OMA forma. Gautoms reikšmėms apskaičiuotas jautrumas, specifiskumas. Prognozei taikytas binarinės logistinės regresinės analizės metodas. Skirtumas laikytas statistškai reikšmingu, kai reikšmingumo lygmuo $p < 0,05$.

REZULTATAI

Remiantis įtraukimo ir neįtraukimo kriterijais, atrinkti 184 asmenys: 122 (66,3 proc.) vyrai ir 62 (33,7 proc.) moterys. Visi pacientai pagal OMA ligos sunkumą buvo suskirstyti į tris grupes: sergančiųjų lengva forma – 30 pacientų (16,3 proc.), vidutine – 55 pacientai (29,9 proc.) ir sunkia – 99 pacientai (53,8 proc.) (1 pav.). Statistinės analizės metu nustatyta, kad reikšmingai daugiau vyrų (78 pacientai – 78,8 proc.) nei moterų sirgo sunkia OMA forma ($p < 0,001$).

Moksliniai darbai ir apžvalgos



1 pav. Pacientų, sergančių lengva, vidutine ir sunkia obstrukcine miego apnėja, pasiskirstymas

* p<0,001 palyginus OMA grupėje tarp lyčių.

1 lentelė. Sergančiųjų obstrukcine miego apnėja demografiniai ir klinikiniai duomenys

Parametrai	Obstrukcinė miego apnėja		
	Vyrai, n=122	Moterys, n=62	p
Amžius, metai	53,6(12,6)	59,9(10,8)	<0,001
Ūgis, cm	179,7(7,1)	162,3(6,1)	<0,001
Svoris, kg	110,8(26,7)	94,1(20,2)	<0,001
KMI, kg/m ²	34,2(7,8)	35,7(7,3)	0,221
Kaklo apimtis, cm	44,8(4,8)	39,1(3,9)	<0,001
Pilvo apimtis, cm	115,2(18,2)	111,7(16,2)	0,202
Epworth mieguistumo skalė, balai	9,7(5,0)	10,8(5,8)	0,195

n – atvejų skaičius, KMI – kūno masės indeksas. Duomenys lentelėje pateikiami vidurkiu ir standartine vidurkio klaida.

2 lentelė. Pacientų demografiniai ir klinikiniai duomenys pagal obstrukcinės miego apnėjos sunkumą

Parametrai, grupės pagal lytis	Obstrukcinės miego apnėjos sunkumas		
	Lengva, n=30	Vidutinė, n=55	Sunki, n=99
Amžius, metai	50,0 (13,2)	56,2 (12,8)	57,3 (11,5)
Vyrai	47,3 (15,5)	49,8 (12,7)*	56,3 (11,4)
Moterys	52,7 (10,4)	63,3 (8,4)*	60,8 (11,8)
Svoris, kg	94,8 (23,1)	93,4 (16,7)	114,9 (27,0)
Vyrai	100,1 (21,8)	97,4 (16,3)	117,8 (28,2)*
Moterys	89,6 (24,0)	88,9 (16,3)	103,8 (18,8)*
KMI, kg/m ²	31,5 (7,5)	31,8 (5,2)	37,3 (8,0)
Vyrai	29,5 (6,0)	30,0 (4,7)*	36,7 (8,0)
Moterys	33,4 (8,4)	33,8 (5,1)*	39,8 (7,4)
Kaklo apimtis, cm	39,3 (3,7)	40,0 (3,5)	45,5 (5,0)
Vyrai	41,1 (3,3)*	42,1 (3,0)*	46,5 (4,8)*
Moterys	37,4 (3,4)*	37,7 (2,4)*	42,1 (4,1)*

n – atvejų skaičius, KMI – kūno masės indeksas. * p<0,05, palyginus tarp lyčių. Duomenys lentelėje pateikiami vidurkiu ir standartine vidurkio klaida.

Tiriamųjų amžiaus vidurkis buvo 55,8±12,4 metų, jauniausiam pacientui – 24, vyriausiam – 86 metai. Sunkia OMA sergantys pacientai buvo reikšmingai vyresni nei sergantieji lengva forma (p<0,05). OMA sergančios moterys buvo vyresnės nei vyrai. Nustatyta, kad statistiškai reikšmingai vyresnės buvo vidutinio sunkumo OMA sergančios moterys nei vyrai.

Sergančių lengva bei vidutinio sunkumo OMA pacientų svorio, kaklo, pilvo apimties ir KMI vidurkiai buvo reikš-

mingai mažesni nei sirgusių sunkia OMA (p<0,001). Vyrų svoris ir kaklo apimtis buvo reikšmingai didesni nei moterų, o pilvo apimtis tarp lyčių nesiskyrė. Sergančių sunkia OMA vyrų svoris buvo didesnis nei moterų, tuo tarpu kaklo apimtis visose OMA sunkumo grupėse buvo statistiškai reikšmingai didesnė. Vidutinio sunkumo OMA sergančių moterų KMI buvo didesnis nei vyrų. Epworth'o mieguistumo skalės rezultatai tarp lyčių žymiau nesiskyrė. Išsamūs vyrų ir moterų demografiniai, antropometriniai ir klinikiniai duomenys pateikiami 1 ir 2 lentelėse.

Lyginant polisomnografijos duomenis tarp OMA sunkumo grupių, sunkios OMA grupėje buvo reikšmingai didesnis prabudimų indeksas (63,0 įvykių/val., mediana 25–75 proc. (45,4–80,9), p<0,001), mažesnis vidutinis SpO₂ (91,0 proc., mediana 25–75 proc. (88,0–93,0), p<0,001), minimalus SpO₂ (71,0 proc., mediana 25–75 proc. (58,0–79,0), p<0,001), didesnis deguonies desaturacijos indeksas (49,6 įvykių/val., mediana 25–75 proc. (26,3–84,7), p<0,001), trumpesnis visas miego laikas (352,9 ± 70,7 min.), p<0,05) ir paradoksinio miego laikas (70,1 ± 30,8 min., p<0,05), lyginant su lengva ir vidutinio sunkumo. Vertinant kitus polisomnografijos duomenis tarp visų grupių pagal OMA sunkumą, rastas statistiškai reikšmingas skirtumas.

Nustatėme, kad statistiškai didesnis vyrų nei moterų prabudimų indeksas, taip pat AHI ir deguonies desaturacijos indeksas skirtingose miego pozicijose. Lyginant paradoksinio ir lėto miego skirtumus tarp lyčių, vyrams lėto miego fazėje nustatytas statistiškai reikšmingai didesnis AHI ir deguonies desaturacijos indeksas skirtingose miego pozicijose nei moterims. Paradoksinio miego fazėje statistiškai reikšmingų skirtumų tarp lyčių neradome. Išsamūs vyrų ir moterų polisom-

nografijos tyrimo duomenys pateikiami 3 ir 4 lentelėse.

Taikėme daugiaveiksni binarinės logistinės regresinės analizės modelį, reikšmingai prognozuojantį sunkią OMA (5 lentelė). Remdamiesi duomenų rinkiniu nustatėme, kad sunkia OMA serga daugiau vyrų nei moterų. KMI vidurkis, sergančių sunkia OMA, reikšmingai ($p < 0,001$) didesnis nei sergančių lengva arba vidutine (atitinkamai – 37,3 (8,0) kg/m^2 ir 31,8 (5,2) kg/m^2). Remdamiesi ROC testu, apskaičiavome slenkstinį KMI – 34,3 kg/m^2 , atsižvelgiant į OMA sunkumą. Epworth'o mieguistumo skalės balų vidurkis sergančių sunkia OMA forma buvo reikšmingai ($p = 0,049$) didesnis nei sergančių lengva ir vidutine (atitinkamai – 10,8 (5,6) balai ir 9,3 (4,9) balai). Remdamiesi ROC testu, nustatėme slenkstinę Epworth'o mieguistumo skalės vertę – 12 balų, atsižvelgiant į OMA sunkumą. Daugiaveiksni binarinės regresinės analizės modelio regresoriai: paciento amžius, lytis, KMI ir Epworth'o mieguistumo skalės vertė. Paciento amžiui didėjant metais, šansų santykis (ŠS) padidėja 1,041.

Vyriškosios lyties ŠS didesnis – 8,136. Esant KMI $\geq 34,3 \text{ kg/m}^2$, ŠS didesnis – 7,048 ir esant Epworth'o mieguistumo skalės ≥ 12 balų ŠS didesnis – 2,46 (modelis teisingai prognozuoja 76,1 proc., jo Nagelkerke determinacijos koeficientas – 0,374).

REZULTATŲ APTARIMAS

Pacientų tyrimai dėl OMA atliekami Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje jau daugiau nei 20 metų. Dar 2003 m. žurnale „Medicina“ publikuotame mūsų klinikos gydytojų straipsnyje nagrinėti OMA sergančiųjų klinikiniai ir polisomnografijos tyrimo duomenys. Nuo šios publikacijos paskelbimo išlieka tendencija: Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje OMA dažniau nustatoma vyrams nei moterims, OMA vyrams diagnozuojama ankstesniame amžiuje, jų Epworth'o mieguistumo skalės balų suma ir AHI didesni nei moterų [8]. 2003 ir 2019 m. tyrimų imtyse KMI nesiskyrė. Moterų mieguistumą vertina didesniu balu nei anksčiau, vyrų mieguistumo vertinimas nesiskiria. Skirtingai nei 2003 m., 2019 m. tyrime tiek vyrams, tiek moterims, nustatomas mažesnis AHI ir didesnis prabudimų indeksas.

Mūsų atlikto tyrimo imtis nereprezentuoja visos populiacijos, nes tyrimas atliktas tik vienoje klinikoje, bet sergamumas OMA panašus kaip kitose šalyse. Vyrų, sergančių OMA yra 2–3 kartus daugiau nei moterų [9–10]. Mūsų analizės duomenimis, OMA sirgo 66,3 proc. tirtų vyrų, apskaičiavome, kad vyrui sirgti sunkia

3 lentelė. Sergančiųjų obstrukcine miego apnėja polisomnografijos tyrimo duomenys

Parametrai	Obstrukcinė miego apnėja		
	Vyrai, n=122	Moterys, n=62	p
Prabudimų indeksas (įvykių/val.)	48,6 (37,1–72,9)	38,3 (28,5–49,3)	<0,001
AHI (įvykių/val.)	37,7 (21,1–71,4)	22,9 (15,5–39,4)	<0,001
AHI ant nugaros (įvykių/val.)	69,0 (39,0)	49,4 (37,3)	<0,001
AHI ant šonų (įvykių/val.)	64,2 (13,6–100,8)	44,9 (9,6–22,9)	<0,05
Deguonies desaturacijos indeksas (įvykių/val.)	23,6 (9,6–70,9)	16,4 (6,5–32,7)	<0,05
Deguonies desaturacijos indeksas ant nugaros (įvykių/val.)	58,5 (19,0–84,7)	29,4 (9,6–62,6)	<0,001
Paradoksinio miego fazė – statistiškai reikšmingų skirtumų tarp lyčių nenumatyta			
Lėto miego fazė			
AHI (įvykių/val.)	35,4 (20,9–66,1)	20,5 (9,8–35,6)	<0,001
AHI ant nugaros (įvykių/val.)	60,6 (34,6)	42,8 (33,8)	<0,001
AHI ant šonų (įvykių/val.)	56,5 (7,9–90,5)	38,4 (8,3–33,9)	<0,001
Deguonies desaturacijos indeksas (įvykių/val.)	21,2 (8,1–63,0)	8,9 (3,8–27,1)	<0,05
Deguonies desaturacijos indeksas ant nugaros (įvykių/val.)	47,9 (16,8–70,2)	19,4 (5,8–54,9)	<0,05

n – atvejų skaičius, AHI – apnėjų ir hipopnėjų indeksas. Duomenys lentelėje pateikiami vidurkiu, kai kintamasis tenkina normalumo sąlyga – standartine vidurkio klaida (SN), kai netenkina – mediana (25–75 proc.). Lentelėje nurodomi polisomnografijos duomenys – tik nustatyti statistiškai reikšmingi tarp lyčių.

OMA tikimybė aštuonis kartus didesnė nei moteriai. Kanados tyrėjai nurodo, kad vyrai dažniau siunčiami OMA ligos tyrimui į specializuotus centrus, nes vyriškoji lytis yra priskiriama prie OMA rizikos veiksnių [11]. Taip pat vyriškoji lytis, kaip OMA rizikos veiksnys, nurodoma 2018 m. Lietuvos obstrukcinės miego apnėjos diagnostikos ir gydymo rekomendacijose [17].

Kelių Japonijos universitetų bendrame tyrime pastebėta, kad skirtingų rasių grupėse amžiaus ir lyčių pasiskirstymas panašus [12]. Mūsų tyrime visi pacientai buvo tos pačios rasės, amžiaus vidurkis buvo $55,8 \pm 12,4$ metų. Literatūros duomenimis, OMA dažniau serga vyresni nei 65 metų amžiaus pacientai [9]. JAV apžvalginuose straipsniuose teigiama, kad šis su amžiumi susijęs paplitimo padidėjimas gali būti siejamas su riebalų kiekio didėjimu apie parafaringinius audinius, minkštojo gomurio prailgėjimu ir kitų anatominių parafaringinių struktūrų pokyčiais [9, 13]. Korėjos populiacijos tyrime: OMA sergančių moterų amžiaus vidurkis buvo 56,1 metų, vyrų – 47,3 metų [14]. Mūsų tyrime OMA sergančių moterų amžiaus vidurkis buvo didesnis nei vyrų. Turkijos tyrėjų duomenimis, priešmenopauzinio amžiaus moterų ir vyrų sergamumo OMA santykis skiriasi, tačiau postmenopauzinio amžiaus moterų ir vyrų sergamumo santykis yra panašus [15]. Skandinavijos ginekologijos žurnalo publikacijoje nurodoma, kad moterims po menopauzės OMA rizika padidėja du kartus [16]. Tai pateikiama 2018 m. Lietuvos OMA diagnostikos ir

Moksliniai darbai ir apžvalgos

4 lentelė. Pacientų polisomnografijos tyrimo duomenys pagal obstrukcinės miego apnėjos sunkumą

Parametrai, grupės pagal lytis	Obstrukcinės miego apnėjos sunkumas		
	Lengva, n=30	Vidutinė, n=55	Sunki, n=99
Prabudimų indeksas (įvykių/val.)			
Vyrai	38,5 (33,6–42,7)*	34,4 (30,5–42,2)	64,9 (47,9–82,8)
Moterys	27,5 (20,1–37,0)*	36,6 (28,8–45,9)	47,6 (39,6–72,6)
Minimalus SpO ₂ (proc.)			
Vyrai	88 (87–90)	85 (82,5–87)	73 (71,8–80)*
Moterys	86 (82–89)	83 (74,5–85,5)	65 (49,5–76,5)*
Deguonies desaturacijos indeksas (įvykių/val.)			
Vyrai	2,3 (1,0–3,9)*	9,8 (7,1–13,3)	47,4 (25,7–86,0)
Moterys	5,2 (3,1–8,5)*	11,4 (7,0–21,3)	50,1 (26,1–85,0)
Deguonies desaturacijos indeksas ant šonų (įvykių/val.)			
Vyrai	2,2 (0,0–3,7)*	7,2 (2,1–12,3)*	81,0 (22,2–123,5)
Moterys	6,5 (2,1–10,2)*	13,5 (3,4–17,0)*	94,8 (30,9–151,1)
Paradoksinio miego fazė – statistškai reikšmingų skirtumų tarp lyčių nenustatyta			
Lėto miego fazė			
AHI (įvykių/val.)			
Vyrai	7,0 (5,9–10,1)	20,7 (15,6–23,5)*	54,5 (36,5–77,9)
Moterys	4,4 (3,7–6,9)	17,8 (14,0–23,3)*	39,7 (34,4–78,0)
Vidutinis SpO ₂ (proc.)			
Vyrai	94 (93–95)	94 (93–94)*	91 (88–93)
Moterys	94 (92–95)	92 (91,8–94)*	90 (86,5–92)
Deguonies desaturacijos indeksas (įvykių/val.)			
Vyrai	1,2 (0,4–2,2)*	8,4 (4,1–10,8)	47,3 (22,2–76,9)
Moterys	3,1 (1,0–5,0)*	8,0 (4,7–13,8)	43,3 (24,6–81,7)
Deguonies desaturacijos indeksas ant šonų (įvykių/val.)			
Vyrai	1,1 (0,0–2,4)*	3,6 (0,5–4,4)*	67,9 (13,1–108,7)
Moterys	3,2 (1,5–4,7)*	9,1 (1,7–10,7)*	81,6 (14,1–142,7)

n – atvejų skaičius, AHI – apnėjų ir hipopnėjų indeksas, SpO₂ – kraujo įsotinimas deguonimi, *p<0,05 palyginus tarp lyčių. Duomenys lentelėje pateikiami vidurkiu, kai kintamasis tenkina normalumo sąlyga – standartine vidurkio klaida (SN), kai netenkina – mediana (25–75 proc.). Lentelėje nurodomi polisomnografijos duomenys – tik nustatyti statistškai reikšmingi OMA grupėse tarp lyčių.

5 lentelė. Sunkios OMA formos šansų santykiai, atsižvelgiant į paciento lytį, KMI ir Epworth'o mieguistumo skalę

Analizuojami požymiai	Sunkios OMA formos ŠS (95 proc. PI)
Lytis	
Vyras	8,136 (3,497–18,932)
Moteris	1
KMI, kg/m ²	
<34,3	1
≥34,3	7,048 (3,264–15,22)
Epworth'o mieguistumo skalė, balai	
<12	1
≥12	2,46 (1,142–5,298)
Konstanta=-4,579, p<0,001	

ŠS – šansų santykis, PI – pasikliautinis intervalas, KMI – kūno masės indeksas.

gydymo rekomendacijose [17], taigi, gydytojai turėtų dažniau įtarti OMA moterims po menopauzės.

Mieguistumas dieną – vienas pagrindinių OMA simptomų, jį reikia atskirti nuo kitos kilmės mieguis-

tumo. Mieguistumas vertinamas pagal Epworth'o mieguistumo skalę: patologinis mieguistumas nustatomas esant 10 ir daugiau balų, kuris nepriklauso nuo trumpalaikio savijautos pokyčio [17]. Remdamesi ROC testu nustatėme, kad Epworth'o mieguistumo skalėje, pacientui surinkus daugiau nei 12 balų, sunkios OMA rizika padidėja 2,46 karto. Europos respiratologų žurnale publikuotame prancūzų populiacijos tyrime pastebėta, kad moterys turi daugiau OMA ligos klinikinių požymių, palyginus su vyrais [18]. Mūsų tyrime, pastebėta tendencija, kad moterys įvertino savo mieguistumą didesniu Epworth'o mieguistumo skalės balu nei vyrai, tačiau statistškai reikšmingo skirtumo tarp lyčių nenustatėme.

Mūsų tyrimo polisomnografijos duomenų analizės duomenys buvo panašūs į kitų tyrimų duomenis: Amerikos intensyvosios terapijos žurnalo apžvalgoje aprašoma, kad moterims nustatomas mažesnis bendrasis AHI ir mažesnis pozicinis AHI, palyginus su vyrais [19]. Lėto miego fazėje nustatėme, kad moterims mažesnis AHI ir DI skirtingose miego pozicijose nei vyrams. Tai galima paaiškinti tuo, kad moterų viršutiniai kvėpavimo takai mažiau kolaptuoja lėto miego metu, o paradoksinio miego metu AHI reikšmingo skirtumo nerasta. Panašūs duomenys pateikiami ir JAV publikacijose [9, 19]. Europos respiratologų apžvalgoje aiškinama, kad tokia tendencija moterims galima dėl įvairių mechanizmų, susijusių su lytinių hormonų pokyčiais, skirtingu kūno svorio pasiskirstymu nei vyrų, mažesniu viršutinių kvėpavimo takų jautrumu ir kvėpavimo įvykių registravimu [20].

Tyrimų duomenimis, KMI yra glaudžiai susijęs su OMA rizika [3]. San Paulo tyrime vidutinė arba sunki OMA nustatyta 21 proc. vyrų, turinčių antsvorį, 63 proc. – nutukimą, 3 proc. moterų, kurių kūno svoris normalus, 9 proc. turinčių nutukimą, 22 proc. – antsvorį [2]. Mes reikšmingo KMI skirtumo tarp lyčių neradome, tačiau vyrų kaklo apimtis ir svoris buvo reikšmingai didesnis nei moterų, vertinant ir pagal OMA ligos sunkumą.

IŠVADOS

Mūsų tyrimo duomenimis, sunkia OMA dažniau sirgo vyresnio amžiaus pacientai. Sergančios OMA moterys buvo vyresnės nei vyrai. Vyrai dažniau sirgo

sunkia OMA forma. OMA nebuvo susijusi su KMI, bet buvo susijusi su kaklo apimtimi ir kūno svoriu. Pagrindiniai polisomnografijos skirtumai tarp lyčių išryškėjo lėto miego metu, o ne paradoksinio. Prognoziniais sunkios OMA kriterijais galėtume laikyti vyrišką lytį, nutukimą ir Epworth'o mieguistumo skalės balų sumą didesnę nei 12 balų.

Gauta 2021 03 15

Priimta 2021 05 13

LITERATŪRA

1. **Jennum P, Riha RL.** Epidemiology of sleep apnoea/hypopnoea syndrome and sleep-disordered breathing. *Eur Respir J.* 2009; 33: 907–14.
2. **Reddy EV, Kadiravan T, Mishra HK, Sreenivas V, Handa KK, Sinha S, et al.** Prevalence and risk factors of obstructive sleep apnea among middle-aged urban Indians: a community-based study. *Sleep Med.* 2009;10(8):913–8.
3. **Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LRA.** Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo epidemiologic sleep study. *Sleep Med.* 2010;11(5): 441–6.
4. **Senaratna CV, Perret JL, Lodge CJ, Lowe AJ, Campbell BE, Matheson MC, et al.** Prevalence of obstructive sleep apnea in the general population: A systematic review. *Sleep Med Rev.* 2017;34:70–81.
5. **Gabbay IE, Lavie P.** Age- and gender-related characteristics of obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2012; 16(2): 453–60.
6. **Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM.** Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol.* 2013;177(9):1006.
7. **Lechner M, Breeze CE, Ohayon MM, Kotecha B.** Snoring and breathing pauses during sleep: interview survey of a United Kingdom population sample reveals a significant increase in the rates of sleep apnoea and obesity over the last 20 years – data from the UK sleep survey. *Sleep Med.* 2019;54:250.
8. **Miliauskas S, Sakalauskas R.** Mieguistumą lemiantys veiksniai sergant obstrukcine miego apnėja. *Medicina.* 2003, 39;3:232–20.
9. **Punjabi NM.** The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc.* 2008;5:136–43.
10. **Garvey JF, Pengo MF, Drakatos P, Kent BD.** Epidemiological aspects of obstructive sleep apnea. *J Thorac Dis.* 2015; 7(5): 920–9.
11. **Evans J, Skomro R, Driver H, Graham B, Mayers I, McRae L, et al.** Sleep laboratory test referrals in Canada: sleep apnea rapid response survey. *Can Respir J.* 2014;21(1):e4-10.
12. **Yamagishi K, Ohira T, Nakano H, Bielinski SJ, Sakurai S, Imano H, et al.** Cross-cultural comparison of the sleep-disordered breathing prevalence among Americans and Japanese. *Eur Respir J.* 2010;36(2):379–84.
13. **Kapur VK.** Obstructive sleep apnea: diagnosis, epidemiology, and economics. *Respir Care.* 2010;55:1155–67.
14. **Kang HH, Kang JY, Ha JH, Lee J, Kim SK, Moon HS, et al.** The associations between anthropometric indices and obstructive sleep apnea in a Korean population. *PLoS One.* 2014;9(12):e114463.
15. **Yildirim Y, Yilmaz S, Güven M, Kılınc F, Kara AV, Yilmaz Z, et al.** Evaluation of Anthropometric and Metabolic Parameters in Obstructive Sleep Apnea. *Pulm Med.* 2015;2015:189761.
16. **Anttalainen U, Saaresranta T, Aittokallio J, Kalleinen N, Vahlberg T, Virtanen I, et al.** Impact of menopause on the manifestation and severity of sleep-disordered breathing. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(11):1381–8.
17. **Vaitukaitienė G, Miliauskas S, Danila E, Zablockis R, Balsevičius T, Gavelienė E, ir kt.** Lietuvos obstrukcinės miego apnėjos diagnostikos ir gydymo rekomendacijos. *Pulmonologija ir alergologija.* 2018, 2;2:92–108.
18. **Sforza E, Chouchou F, Collet P, Pichot V, Barthélémy JC, Roche F.** Sex differences in obstructive sleep apnoea in an elderly French population. *Eur Respir J.* 2011;37(5):1137–43.
19. **O'Connor C, Thornley KS, Hanly PJ.** Gender differences in the polysomnographic features of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(5):1465–72.
20. **Bonsignore MR, Saaresranta T, Riha RL.** Sex differences in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir Rev.* 2019;28(154):190030.

Pacientų, sergančių nedidelės rizikos plaučių embolija, dešiniojo skilvelio dydžio ir funkcijos pokyčių bei biožymenų vertinimas

ASSESSMENT OF RIGHT VENTRICULAR SIZE, DYSFUNCTION AND BIOMARKERS IN PATIENTS WITH NON HIGH-RISK PULMONARY EMBOLISM

AKVILINA ŽIŪKAITĖ, DIANA BARKAUSKIENĖ
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Tyrimo tikslas. Ištirti dešiniojo skilvelio (DS) echokardiografinių dydžio ir funkcijos pokyčių bei laboratorinių biožymenų reikšmę pacientams, kuriems nustatyta nedidelės rizikos plaučių embolija (PE). **Tyrimo metodika.** Atlikta retrospektyvioji pacientų, kuriems buvo nustatyta nedidelės rizikos ūminė PE ir kurie buvo gydyti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos skyriuje nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2019 m. gruodžio 31 d., duomenų analizė. Vertinti echokardiografiniai DS disfunkcijos ir išsiplėtimo požymiai bei laboratoriniai biožymenys (troponinas I (TnI) ir N-terminalinis smegenų natriuretinis peptidas (NT-pro BNP)). PE sergančiųjų mirčių dažnis vertintas po 30, 90 dienų ir po 12 mėn. **Tyrimo rezultatai.** Į tyrimą įtraukti 157 sergantieji PE (69 vyrai (56,1 proc.) ir 88 moterys (43,9 proc.)), kurių amžiaus vidurkis – 68,7 metų. Moterų mirčių skaičius per 30 dienų buvo statistiškai reikšmingai mažesnis nei vyrų ($p < 0,05$), tačiau po 90 dienų ir 12 mėn. reikšmingo skirtumo tarp lyčių nenustatyta. Echokardiografiniai DS disfunkcijos ir išsiplėtimo požymiai nustatyti 89 pacientams, TnI padidėjimas – 50, NT-proBNP – 20, atitinkamai – 69,0 proc., 62,5 proc. ir 90,9 proc. iš tų pacientų, kuriems šie tyrimai buvo atlikti. Mirties atvejų skaičius per 30 dienų nuo PE nustatymo – 15 (9,6 proc.), 90 dienų – 23 (14,6 proc.), 12 mėn. – 32 (20,4 proc.). Statistiškai patikimai nustatyta didesnė mirties rizika po 30, 90 dienų ir 12 mėn., esant triburio vožtuvo žiedo (TVŽ) sistolinio greičio sumažėjimui, DS išsiplėtimui ir triburio vožtuvo žiedo judesio amplitudės (TVŽJA) sumažėjimui, taip pat po 90 dienų ir 12 mėn. – regurgitacijos per triburį vožtuvą (TV) greičio padidėjimui ($p < 0,05$). Laboratorinių biožymenų padidėjimo ryšio su didesniu mirčių dažniu įrodyti nepavyko ($p > 0,05$). Tam įtakos gali turėti per mažas pacientų skaičius, kuriems buvo atlikti šie tyrimai. **Išvados.** Vertinant PE mirties riziką, echokardiografiniai DS dydžio bei funkcijos pokyčiai padeda prognozuoti ankstyvos ir vėlyvos mirties riziką. **Reikšminiai žodžiai:** plaučių embolija, dešiniojo skilvelio funkcijos pokyčiai, echokardiografija, troponinas I, NT-proBNP.

Summary. Objective. To investigate the significance of right ventricular (RV) echocardiographic changes in size, function and laboratory biomarkers in patients with non-high-risk pulmonary embolism (PE). **Methods.** A retrospective study of patients with non-high-risk acute PE who were treated at the Pulmonology Department of The Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kauno klinikos from 2019 January 1 until 2019 December 31 was performed. Echocardiographic signs of RV dysfunction and congestion, as well as laboratory markers (troponin I (TnI) and N-terminal natriuretic peptide (NT-pro-BNP), were evaluated. Death rates in PE patients were assessed at 30, 90 days, and 12 months. **Results.** The study included 157 patients with acute PE (69 (56.1%) men and 88 (43.9%) women) with a mean age of 68.7 years. The number of deaths in women at 30 days was statistically significantly lower than in men ($p < 0.05$), but after 90 days and 12 months, there was no significant difference between the sexes. Echocardiographic signs of RV dysfunction were found in 89 patients, TnI elevation in 50 patients and NT-proBNP elevation in 20 patients, 69.0%, 62.5%, and 90.9%, respectively of those patients in whom these tests were performed. The number of deaths within 30 days from the determination of PE was 15 (9.6%), 90 days – 23 (14.6%), 12 months – 32 (20.4%). There was a statistically significant increased risk of death at 30, 90 days, and 12 months with decreased peak systolic velocity of the tricuspid annulus, dilatation of the RV, and decreased tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE). Increased risk of death at 90 days and 12 months with increased tricuspid regurgitation velocity ($p < 0.05$). An association between increases in laboratory markers and higher death rates could not be demonstrated ($p > 0.05$). This may be due to the small number of tests performed. **Conclusions.** In assessing the risk of PE death, echocardiographic changes in RV size and function help predict the risk of early and late death.

Keywords: pulmonary embolism, right ventricular dysfunction, echocardiography, troponin I, NT-proBNP.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.712>

IVADAS

Plaučių embolija (PE) yra gyvybei pavojinga liga. Dėl nespecifinių simptomų jos diagnostika yra sudėtinga, o sergamumas šia liga didėja. Kasmet Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) nuo PE miršta iki 300 000 žmonių. Europoje daugiau nei 370 000 mirčių per metus yra susijusios su venų tromboembolija [1]. Viena didelės imties tyrime, kuriame buvo vertinti duomenys iš 4378 JAV ligoninių per 20 metų laikotarpį, naujai diagnozuotų PE atvejų skaičius išaugo beveik tris kartus (nuo 23/100 000 iki 65/100 000 gyventojų). Per šį laikotarpį nustatytas PE sergančių pacientų amžiaus vidurkio mažėjimas (nuo 68 sumažėjo iki 65 metų), nors gretutinių ligų skaičius išaugo. Nepaisant to, mirtingumas stacionarinio gydymo metu sumažėjo [2].

Remiantis Europos kardiologų draugijos (angl. *European Society of Cardiology*, ESC) gairėmis, PE nuo 2008 m. iki šiol yra skirstoma į didelės ir nedidelės rizikos grupes. Tai ankstyvos mirties (mirties per 30 dienų nuo ūminės PE išsivystymo) rizika. Didelės rizikos PE yra nustatoma pacientams, kuriems pasireiškė hemodinamikos nestabilumo požymiai: obstrukcinis šokas, širdies sustojimas arba persistuojanti hipotenzija. Pacientams, kuriems nėra šių požymių, diagnozuojama nedidelės rizikos PE. Toliau nedidelės rizikos PE galima skirstyti į vidutinės ir mažos rizikos PE grupes, kurios yra nustatomos pagal PE sunkumo indeksą (PESI) arba supaprastintą PESI (sPESI) ir dešiniojo skilvelio (DS) funkcijos sutrikimo požymius. Tam atliekama dvimatė echokardiografija, įvertinami laboratoriniai biožymenys: troponinas I (TnI) arba troponinas T (TnT), smegenų natriuretinis peptidas (angl. *B-type natriuretic peptide*, BNP) arba N-terminalinis smegenų natriuretinis peptidas (angl. *N-terminal B-type natriuretic peptide*, NT-pro BNP) [3]. Stebimi DS disfunkcijos požymiai, esant net ir nedidelės rizikos PE, yra blogos prognozės rodikliai, kurie yra susiję su didesniu mirčių skaičiumi ankstyvuojant PE laikotarpiu [4, 5]. Taip pat šiems pacientams nustatyta 14 proc. didesnė PE pasikartojimo tikimybė [6]. DS pažeidimo laboratorinių biožymenų atlikimas ypač svarbus, jeigu nėra galimybės atlikti echokardiografiją [4].

ESC gairės teigia, kad, nustatius mažos rizikos PE, tolesnis echokardiografijos arba laboratorinių biožymenų atlikimas nebūtinai [3]. Tačiau PESI arba sPESI apskaičiavimas remiasi klinikiniais požymiais ir simptomais hospitalizavimo momentu bei vėliau nėra peržiūrimas kintant paciento būklei. Atliktais tyrimais įrodyta, kad esant net mažos rizikos PE, pacientai, kuriems nustatyta DS funkcijos sutrikimo požymių, turi didesnę ankstyvos mirties riziką [7, 8].

TYRIMO METODIKA

Atlikta retrospektyvioji pacientų, kuriems buvo nustatyta nedidelės rizikos PE ir kurie buvo gydyti

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos skyriuje nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2019 m. gruodžio 31 d., duomenų analizė. Tyrimui atlikti gautas LSMU Bioetikos centro pritarimas Nr. BEC-LSMU(R)-21.

Į tyrimą įtraukti 18 metų ir vyresnių pacientų duomenys, kuriems ūminė PE buvo patvirtinta krūtinės ląstos kompiuterinės tomografijos tyrimu, atliktu ne vėliau kaip 24 val. iki hospitalizavimo, ir PE simptomų trukmė buvo ne ilgesnė nei dvi savaitės. Nedidelės rizikos PE buvo diagnozuota tiems pacientams, kuriems hospitalizavimo metu nebuvo hemodinamikos nestabilumo požymių ir simptomų. Hemodinamikos nestabilumo požymiai ir simptomai, remiantis ESC gairėmis, yra persistuojanti hipotenzija, obstrukcinis šokas arba širdies sustojimas (taikytas gaivinimas) [3]. Šie pacientai į tyrimą nebuvo įtraukti.

Remiantis ESC PE gairėmis, Europos širdies ir kraujagyslių vaizdo tyrimų asociacijos suaugusiųjų echokardiografijos sutarimo rekomendacijomis, vertinti šie echokardiografiniai DS dydžio ir funkcijos pokyčiai: DS išsiplėtimas >42 mm (matuojant viršūniniame keturių ertmių vaizde, DS bazėje), suplokštėjusi arba išsigaubianti į kairįjį skilvelį (KS) tarpkilvelinė pertvara (TP), sumažėjusi triburio vožtuvo žiedo judesio amplitudė sistolėje (TVŽJA) <16 mm, sumažėjęs triburio vožtuvo žiedo (TVŽ) sistolinis greitis (S') <9,5 cm/sek., TV regurgitacijos greičio padidėjimas >2,8 m/sek., išsiplėtusi apatinė tuščioji vena (ATV) >21 mm ir įkvepiant mažiau kaip 50 proc. subliūkstanti ATV [3, 9]. Laboratoriniai biožymenys DS disfunkcijai ir miokardo pažeidimui vertinti: NT-proBNP padidėjimas >125 ng/l ir TnI padidėjimas >0,04 μg/l. Pagal šiuos parametrus pacientai atitinkamai buvo suskirstyti į grupes: pacientai, kuriems nustatyta pokyčių ir be jų. PE sergančiųjų mirčių dažnis vertintas po 30, 90 dienų ir po 12 mėn. nuo PE nustatymo pradžios.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant statistinį paketą SPSS (angl. *Statistical package for social sciences*) 23.0. Kiekybiniai duomenys pateikti nurodant vidurkį ir standartinį nuokrypį (SN). Kiekybinių parametrų skirtumas tarp dviejų tiriamųjų grupių vertintas taikant Stjudento (t) kriterijų. Kokybiniai dydžiai aprašomi absoliučiais skaičiais ir procentais. Vertinant kokybinius požymius, jų tarpusavio priklausomumas ištirtas naudojant chi kvadrato (χ^2) testą bei Fišerio kriterijų. Apskaičiuotas mirties po 30, 90 dienų ir 12 mėn. nuo PE diagnozavimo šansų santykis (ŠS). Sudarant pasikliautinąjį intervalą (PI), pasirinktas 95 proc. pasikliautinumo lygmuo. Požymių skirtumas tiriamųjų grupėse laikytas statistiškai reikšmingu, kai $p < 0,05$.

REZULTATAI

Peržiūrėti 299 pacientų, kurie buvo gydyti Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje nuo 2019 m. sausio

Moksliniai darbai ir apžvalgos

1 lentelė. Tiriamųjų demografiniai ir klinikiniai duomenys

Rodmenys	Bendras tiriamųjų skaičius, n=157	Išgyvenę pacientai n=124	Mirtimi pasibaigę atvejai po 30 dienų, n=15 (9,6 proc.)	Mirtimi pasibaigę atvejai po 90 dienų, n=23 (14,6 proc.)	Mirtimi pasibaigę atvejai po 12 mėn., n=32 (20,4 proc.)
Amžiaus vidurkis, metais, SN	68,7 (15,5)	68,4 (15,6)	71,1 (12,6)	67,8 (16,6)	69,3 (15,2)
Lytis					
Moterys, n (proc.)	88 (56,1)	50 (40,3)	11 (73,3)	14 (60,9)	19 (29,4)
Vyrai, n (proc.)	69 (43,9)	74 (59,7)	4 (26,7)	9 (39,1)	13 (40,6)
Nustatyti echokardiografiniai DS pažeidimo požymiai, n (proc. ^a)	89 (69,0)	70 (65,4)	9 (100)	14 (93,3)	18 (85,7)
TnI padidėjimas, n (proc. ^a)	50 (62,5)	50 (61,0)	5 (50,0)	5 (45,5)	7 (53,8)
NT-proBNP padidėjimas, n (proc. ^a)	20 (90,9)	14 (70,0)	7 (100)	9 (100)	10 (100)

DS – dešinysis skilvelis; NT-proBNP – N-terminalinis smegenų natriuretinis peptidas; SN – standartinis nuokrypis; TnI – troponinas I. ^aprocentinė dalis, apskaičiuota pagal atliktų tyrimų skaičių.

2 lentelė. Echokardiografinių dešiniojo skilvelio dydžio ir funkcijos pokyčių bei laboratorinių biožymenų palyginimas, apskaičiuavus mirties šansų santykį po 30, 90 dienų ir 12 mėn.

Rodmenys	Po 30 dienų			Po 90 dienų			Po 12 mėn.		
	ŠS	95 proc. PI	p reikšmė	ŠS	95 proc. PI	p reikšmė	ŠS	95 proc. PI	p reikšmė
DS išsiplėtimas	18,7	2,3–155,6	<0,05	6,8	1,0–23,0	<0,05	4,5	1,7–11,9	<0,05
TVŽJA sumažėjimas			<0,05	12,6	2,3–69,4	<0,05	6,0	1,6–22,1	<0,05
TVŽ (S') sumažėjimas	13,4	2,4–75,4	<0,05	4,6	1,4–15,7	<0,05	4,3	1,5–12,7	<0,05
TV regurgitacijos greičio padidėjimas	6,2	0,7–52,0	>0,05	10,5	1,3–84,9	<0,05	5,0	1,3–18,6	<0,05
ATV išsiplėtimas	1,9	0,2–14,2	>0,05	1,1	0,2–5,0	>0,05	0,5	0,1–2,2	>0,05
ATV kolaptavimo sumažėjimas	4,6	0,4–46,6	>0,05	1,1	0,3–4,7	>0,05	0,6	0,2–2,4	>0,05
TP suplokštėjimas arba išlinkimas į KS	3,2	0,7–14,2	>0,05	1,7	0,4–6,7	>0,05	2,1	0,7–6,6	>0,05
TnI padidėjimas	0,4	0,1–1,5	>0,05	0,3	0,1–1,1	>0,05	0,4	0,1–1,5	>0,05
NT-proBNP padidėjimas			>0,05			>0,05			>0,05

ATV – apatinė tuščioji vena; DS – dešinysis skilvelis; KD – kairysis skilvelis; NT-proBNP – N galo smegenų natriuretinis peptidas; PI – pasikliautinis intervalas; S' – sistolinis greitis; ŠS – šansų santykis; TP tarpkilvelinė pertvara; TV – triburis vožtuvas; TVŽ – triburio vožtuvo žiedas; TVŽJA – triburio vožtuvo žiedo judesio amplitudė; TnI – troponinas I.

1 d. iki 2019 m. gruodžio 31 d., duomenys. Į tyrimą įtraukti 157 pacientai, atitinkantys tyrimo kriterijus.

Tiriamųjų amžiaus vidurkis – 68,7 metų, jauniausias pacientas buvo 23, vyriausias – 95 metų. 69 pacientai (56,1 proc.) buvo vyrai ir 88 pacientai – moterys (43,9 proc.). Moterų mirčių skaičius per 30 dienų buvo statistiškai reikšmingai mažesnis nei vyrų ($p < 0,05$), tačiau po 90 dienų ir 12 mėn. reikšmingo skirtumo tarp lyčių nenumatyta. Amžiaus vidurkio skirtumo tarp išgyvenusiųjų ir mirusiųjų nenumatyta ($p > 0,05$).

Dažniausios lėtinės gretutinės ligos, kuriomis sirgo tiriamieji su mirtimi pasibaigusia baigtimi: širdies ir kraujagyslių ligos (arterinė hipertenzija ($n=15$, 46,9 proc.), išeminė širdies liga ($n=9$, 28,1 proc.), prieširdžių virpėjimas ($n=4$, 12,5 proc.) ir širdies nepakankamumas ($n=4$, 12,5 proc.)), taip pat onkologinės ligos ($n=13$, 40,6 proc.) bei cukrinis diabetas ($n=7$, 31,9 proc.).

Echokardiografiniai DS funkcijos pokyčiai bei DS išsiplėtimas nustatyti 89 pacientams, TnI padidėji-

mas – 50, NT-proBNP – 20, atitinkamai – 69,0 proc., 62,5 proc., ir 90,9 proc. pacientų, kuriems šie tyrimai buvo atlikti. Mirties atvejų skaičius per 30 dienų nuo PE nustatymo – 15 (9,6 proc.), 90 dienų – 23 (14,6 proc.), 12 mėn. – 32 (20,4 proc.). Išsamesni tiriamųjų duomenys pateikiami 1 lentelėje.

Labiausiai tiek ankstyvuoju, tiek vėlesniu laikotarpiu mirties riziką didino sumažėjęs TVŽ sistolinis greitis ir DS išsiplėtimas ($p < 0,05$). TVŽJA sumažėjimas taip pat reikšmingai buvo susijęs su padidėjusiu mirties atvejų skaičiumi, tačiau tikslesnių duomenų pateikti ankstyvuoju PE laikotarpiu nepavyko dėl per mažo tirtų duomenų skaičiaus. Esant TV regurgitacijos greičio padidėjimui, statistiškai reikšmingai nustatyta didesnė mirties rizika po 90 dienų ir po 12 mėn., tačiau reikšmingo skirtumo nenumatyta ankstyvuoju PE laikotarpiu. Kiti echokardiografiškai išmatuoti parametrai pokyčiai statistiškai reikšmingai nebuvo susiję su didesne mirties rizika ($> 0,05$). Laboratorinių biožymenų padidėjimo ryšio su didesniu mirčių daž-

niu įrodyti nepavyko ($p>0,05$). Tam įtakos gali turėti mažas atliktų tyrimų skaičius – iš 157 pacientų tik 33 atliktas NT-proBNP tyrimas ir 83 – TnI tyrimas. Išsamesni echokardiografinių parametru ir laboratorinių biožymenų duomenys pateikiami 2 lentelėje.

REZULTATŲ APTARIMAS

Šiame tyrime PE nustatyta vyresnio amžiaus pacientams (vidurkis ir moda – 69 metai), tačiau amžius su didesniu mirčių dažniu nebuvo susijęs ($p>0,05$). Amžiaus vidurkis buvo panašus kaip ir kituose atliktuose tyrimuose [1, 2]. Remiantis ankstesniais tyrimais, pacientų, sergančių nedidelės rizikos PE, ankstyvasis mirtingumas svyravo nuo 1 iki 13,5 proc., 3 mėn. – 16–20 proc. [2, 4, 10]. Panašus mirtingumas nustatytas ir šiame tyrime: 30 dienų – 9,6 proc., 90 dienų – 14,6 proc. Vertinant nedidelės rizikos PE baigtis po 3 mėn., duomenų nedaug, o tiriamųjų grupės buvo heterogeniškos. Dėl to bendras vienerių metų mirčių dažnis labai skyrėsi, jis svyravo nuo 2,2 iki 73 proc. [11]

Literatūroje aprašyta nemažai echokardiografinių pokyčių, kurie gali rodyti DS disfunkciją, tačiau jie yra labai įvairūs ir skirtinguose tyrimuose vertinti skirtingai. ESC gairėse taip pat pažymima, kad iki šiol nėra vieningo standartizuoto DS echokardiografijos vertinimo pacientams, sergantiems PE [3, 7, 8]. Dažniausiai aprašomi DS echokardiografinių parametru pokyčiai esant PE yra DS išsiplėtimas, DS ir KS diametru santykis, ATV išsiplėtimas ir kolaptavimas, tarpšilvelinės pertvaros suplokštėjimas arba išlinkimas į KS, DS laisvos sienos hipokinezija, TV regurgitacijos greičio padidėjimas, trombai DS arba prieširdyje, TVŽJA sumažėjimas, TVŽ sistolinio greičio sumažėjimas, plaučių arterijos akceleracijos laiko sumažėjimas, McConnell's požymis, 60/60 požymis [4, 12]. Šiame tyrime DS/KS santykis nebuvo apskaičiuotas, nes jo vertinimas turėtų būti atliekamas echokardiografijos metu toje pačioje projekcijoje. Taip pat DS ir KS santykį reikėtų vertinti atsižvelgiant į atskirai išmatuotus DS ir KS dydžius. Šis santykis gali būti ir normalus esant abiejų skilvelių išsiplėtimui [4]. Kiti minėti echokardiografiniai parametrai į šį tyrimą neįtraukti dėl labai mažo jų vertinimo dažnio tirtoje imtyje.

Vienareikšmių duomenų nėra, tačiau kai kurie tyrimai rodo echokardiografijos svarbą po 3–6 mėn., vertinant DS dydžio ir funkcijos pokyčius dinamikoje. Pacientams su išliekančiais DS disfunkcijos požymiais yra nustatytas didesnis bendras mirčių dažnis bei didesnė PE pasikartojimo rizika [13]. Todėl echokardiografijos atlikimas svarbus nustatant PE ir įvertinant ne tik DS funkcijos ar dydžio pokyčius, bet ir vėliau – lyginant dinamikoje su ankstesniais tyrimais bei sprendžiant dėl tolesnio gydymo.

Šiame tyrime laboratorinių biožymenų statistiškai reikšmingo ryšio su didesniu mirčių skaičiumi įrodyti

nepavyko, nors visais mirtimi pasibaigusiais atvejais buvo nustatytas NT-proBNP padidėjimas. Tam įtakos gali turėti per mažas tiriamųjų skaičius, nes didesnės imties tyrimai įrodė laboratorinių biožymenų prognozinę vertę ankstyvosios PE baigtims vertinti [4]. Netgi esant mažos rizikos PE, 30 proc. pacientų buvo nustatyta padidėjusi troponino koncentracija serume [8]. NT-proBNP arba BNP padidėjimas susijęs su blogesnėmis baigtimis ir pasižymi dideliu jautrumu (96–97 proc.), tačiau maža teigiama predikcinė vertė (12–13 proc.) bei specifiskumu (42 proc.). Šie biožymenys gali padidėti ir esant kitoms patologijoms, iš kurių dažniausia yra lėtinis širdies nepakankamumas [4]. Todėl, vertinant laboratorinių biožymenų padidėjimą, svarbu atsižvelgti ir į gretutines ligas bei būkles.

IŠVADOS

Vertinant PE mirties riziką, echokardiografiniai DS dydžio bei funkcijos pakyciai, tokie kaip TVŽ sistolinio greičio sumažėjimas, DS išsiplėtimas, TVŽJA sumažėjimas padeda prognozuoti ankstyvos (mirties per 30 dienų) ir vėlyvos (po 90 dienų ir 12 mėn.) mirties riziką.

Šiame tyrime laboratorinių biožymenų statistiškai reikšmingo ryšio su didesniu mirčių skaičiumi įrodyti nepavyko, tačiau pacientų, kuriems buvo atlikti troponino I, NT-proBNP tyrimai, buvo nedaug.

Gauta 2021 03 15

Priimta 2021 04 29

LITERATŪRA

1. **Wendelboe AM, Raskob GE.** Global burden of thrombosis: epidemiologic aspects. *Circ Res.* 2016;118:1340–7.
2. **Smith SB, Geske JB, Kathuria P, Cuttica M, Schimmel DR, Courtney DM, et al.** Analysis of National Trends in Admissions for Pulmonary Embolism. *Chest.* 2016;150(1):35–45.
3. **Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing G–J, Harjola V–P, et al.** 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS): The Task Force for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal.* 2020 (41):543–603.
4. **Coutance G, Cauderlier E, Ehtisham J, Hamon M, Hamon M.** The prognostic value of markers of right ventricular dysfunction in pulmonary embolism: a meta-analysis. *Crit Care.* 2011;15:R103.
5. **Darwish OS, Mahayni A, Patel M, Amin A.** Cardiac Troponins in Low-Risk Pulmonary Embolism Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Hosp Med.* 2018. 13(10):706–12.
6. **Matthews JC, McLaughlin V.** Acute right ventricular failure in the setting of acute pulmonary embolism or chronic pulmonary hypertension: a detailed review of the pathophysiology, diagnosis, and management. *Curr Cardiol Rev.* 2008; 4(1):49–59.
7. **Barco S, Mahmoudpour SH, Planquette B, Sanchez O, Konstantinides SV, Meyer G.** Prognostic value of right ventricular dysfunction or elevated cardiac biomarkers in patients with low-risk pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2019;40(11):902–10.
8. **Becattini C, Agnelli G, Lankeit M, Masotti L, Pruszczyk P, Casazza F, et al.** Acute pulmonary embolism: mortality prediction by the 2014 European Society of Cardiology risk stratification model. *Eur Respir J.* 2016: 780–6.
9. **Galderisi M, Cosyns B, Edvardsen T, Cardim N, Delgado**

Moksliniai darbai ir apžvalgos

- V, Di Salvo G, et al. Standardization of adult transthoracic echocardiography reporting in agreement with recent chamber quantification, diastolic function, and heart valve disease recommendations: an expert consensus document of the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017; 18(12):1301–10.
10. Chen YL, Wright C, Pietropaoli AP, Elbadawi A, Delehanty J, Barrus B, et al. Right ventricular dysfunction is superior and sufficient for risk stratification by a pulmonary embolism response team. *J Thromb Thrombolysis*. 2020; 49(1):34–41.
 11. Dentali F, Riva N, Turato S, Grazioli S, Squizzato A, Steidl L, et al. Pulmonary embolism severity index accurately predicts long-term mortality rate in patients hospitalized for acute pulmonary embolism. *J Thromb Haemost*. 2013; 11(12):2103–10.
 12. Fields JM, Davis J, Girson L, Au A, Potts J, Morgan CJ, et al. Transthoracic Echocardiography for Diagnosing Pulmonary Embolism: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Soc Echocardiogr*. 2017; 30(7):714–23.
 13. Becattini C, Giustozzi M, Cerdà P, Cimini LA, Riera-Mestre A, Agnelli G. Risk of recurrent venous thromboembolism after acute pulmonary embolism: Role of residual pulmonary obstruction and persistent right ventricular dysfunction. A meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2019; 17(8):1217–28.

Akies paviršiaus būklės vertinimas sergantiesiems obstrukcine miego apnėja

OCULAR SURFACE EVALUATION IN PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA

LAURA KAPITANOVAITĖ¹, MARIUS ŽEMAITIS², SKAIDRIUS MILIAUSKAS², REDA ŽEMAITIENĖ¹

¹LSMU MA Akių ligų klinika, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Įvadas. Obstrukcinės miego apnėjos (OMA) sukeltas protarpinis deguonies stygius organizme sukelia sisteminių uždegiminių atsaką, kuris sukelia uždegiminę būklę ir akies paviršiuje. Uždegiminis procesas akies paviršiuje sąlygoja sausų akių sindromo (SAS) atsiradimą, kuris pacientams pasireiškia akių diskomforto simptomais. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti akies paviršiaus būklę pacientams, sergantiems OMA. **Tyrimo metodai.** Į tyrimą įtraukti 43 pacientai, kuriems polisomnografijos tyrimo metu buvo nustatyta OMA, ir 10 kontrolinės grupės tiriamųjų. Klinikiniai ir polisomnografijos tyrimo duomenys surinkti iš ligos istorijų: amžius, lytis, kūno masės indeksas (KMI), apnėjų–hipopnėjų indeksas (AHI), vidutinis arterinio kraujo įsotinimas deguonimi miego metu. Stacionare tiriamieji pildė Akių paviršiaus ligų klausimyną (OSDI) ir jiems buvo atliktas Širmerio mėginys. **Rezultatai.** Remiantis AHI reikšmėmis, 20,9 proc. tiriamųjų nustatyta lengva OMA, 32,6 proc. – vidutinio sunkumo, 46,5 proc. – sunki OMA. Sergančiųjų OMA ašarų sekrecijos mediana buvo 7,5 (2–35) mm, o kontrolinės grupės tiriamųjų – 15,5 (3–25) mm ($p=0,019$). Kontrolinės grupės tiriamųjų OSDI balų mediana buvo 17,7 (2,1–60), o sergančiųjų OMA – 38,8 (2,1–87,5) ($p=0,086$). Rastas atvirkštinis ryšys tarp tiriamosios grupės Širmerio mėginio rezultatų ir OSDI balų ($r=-0,49$, $p=0,001$), tarp tiriamųjų ašarų sekrecijos ir AHI ($r=-0,33$, $p=0,02$) bei tiesioginis ryšys tarp OSDI balų rezultatų ir AHI ($r=0,29$, $p=0,03$). **Išvados.** Pacientams, sergantiems OMA, nustatyta mažesnė ašarų sekrecija ir tendencija, kad sergantieji OMA turėjo daugiau SAS būdingų simptomų nei nesergantys. Didesnis AHI koreliavo su mažesne ašarų sekrecija ir daugiau išreikštais SAS simptomais.

Reikšminiai žodžiai: obstrukcinė miego apnėja, sausų akių sindromas.

Summary. Background. Obstructive sleep apnea (OSA) is a chronic condition that causes intermittent hypoxemia and induces a systemic inflammatory response of the human body, including the ocular surface. Significant ocular involvement plays a key role in the pathogenesis of dry eye syndrome (DES), which manifests with different symptoms of eye discomfort. **The aim of the study.** To evaluate the ocular surface in patients with OSA. **Methods.** 43 patients with confirmed OSA by polysomnography and 10 healthy subjects without OSA were included in the study. The data from patients' case histories were collected: apnea-hypopnea index (AHI), age, gender, body mass index (BMI) and mean oxygen saturation during sleep. Patients completed questionnaires dedicated to the ocular surface disease index (OSDI), and Schirmer's tests were done. **Results.** According to AHI, in 20.9% of cases, OSA was mild, in 32.6% – moderate and in the remaining 46.5% – severe. In OSA patients Schirmer's test values median was 7.5 (2–35) mm versus 15.5 (3–25) mm in the control group ($p=0.019$). The control group's OSDI scores median was 17.7 (2.1–60) versus 38.8 (2.1–87.5) in the OSA group ($p=0.086$). A moderate negative correlation was found between AHI values, and lacrimal secretion ($r=-0.33$, $p=0.02$), also between Schirmer's test values and OSDI scores ($r=-0.49$, $p=0.001$) and a moderate positive correlation was found between AHI values and OSDI scores ($r=0.29$, $p=0.03$). **Conclusions:** OSA patients had lower lacrimal secretion and a tendency to complain of more severe dry eye disease symptoms than patients without OSA. Higher AHI correlated with lower lacrimal secretion and more severe DES complaints.

Keywords: obstructive sleep apnea, dry eye disease.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.713>

ĮVADAS

Obstrukcinė miego apnėja (OMA) – tai liga, kuriai būdingi pasikartojantys kvėpavimo sustojimai miego metu, lemiantys epizodinę hipoksiją ir miego fragmentaciją [1]. OMA įtariama esant būdingiems simptomams (tokiems kaip galvos skausmas, mieguistumas dieną, prabudimai naktį, garsus knarkimas), o „auksiniu standartu“ OMA diagnostikoje laikomas visos nakties pilnas polisomnografijos tyrimas (PSG) [2]. Negydoma OMA gali būti daugelio įvairių komplikacijų priežastimi, įrodytas ryšys su kitomis ligomis.

Literatūroje aprašytas ryšys tarp OMA ir akių ligų: glaukomos, keratito, keratokonuso ir kitų [3–5]. Pastaraisiais metais aprašyti naujų tyrimų duomenys apie sausų akių sindromo (SAS) pasireiškimą pacientams, sergantiems OMA [6, 7]. Nagrinėti galimi patofiziologiniai OMA ir SAS išsivystymo mechanizmai, t. y. apnėjos sukeltas protarpinis deguonies stygius organizme sukelia sisteminių uždegiminių atsaką, kuris sąlygoja uždegiminę būklę ir akies paviršiuje [7, 8]. Akies paviršiaus uždegimas sąlygoja SAS atsiradimą, o šis pacientams pasireiškia akių diskomforto simp-

Moksliniai darbai ir apžvalgos

tomais. Literatūroje taip pat aprašomas ir nuolatinio teigiamo slėgio ventiliacijos aparato, kuriuo gydoma OMA, šalutinis nepageidaujamas poveikis akies paviršiui – per nosies kaukės šonus praleidžiamas oras gali dirginti akies paviršių ir sukelti pacientams akių sausumo simptomus [9].

Remiantis publikuotais literatūros šaltiniais, duomenų apie SAS pasireiškimą pacientams, sergantiems OMA, yra nedaug, o Lietuvoje nėra iš viso, todėl buvo nuspręsta atlikti tyrimą ir palyginti su kitų autorių gautais rezultatais.

Šio tyrimo tikslas – įvertinti pacientų, sergančių OMA, akies paviršiaus būklę ir palyginti su kontroline grupe.

METODIKA

Tyrimo dalyvavo asmenys, kurie buvo hospitalizuoti į Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos klinikos miego laboratoriją tyrimui dėl miego apnėjos. Tyrimui atlikti gautas LSMU Bioetikos leidimas Nr. BEC–MF–104 ir pacientų raštiškas sutikimas.

Į tyrimą įtraukti pacientai, kuriems pirmą kartą diagnozuota OMA, vyresni nei 18 metų, neturintys gretutinių sisteminių ligų, tokių kaip, reumatoidinis artritas, jungiamojo audinio ligos bei akių ligos (glaukoma, akies traumos, anksčiau atliktos akių operacijos). Pagal PSG tyrimo duomenis atrinkti 43 tiriamieji, kuriems patvirtinta OMA. Kontrolinę grupę sudarė 10 tiriamųjų, kurie turėjo simptomų, būdingų OMA, tačiau PSG tyrimu nebuvo patvirtinta OMA diagnozė.

Visi tiriamieji užpildė standartizuotą Akių paviršiaus ligų klausimyną (angl. *ocular surface disease index*, OSDI), kurį sudaro trys klausimų grupės: klausimai apie pagrindinius SAS simptomus, apie akių simptomus, užsiimant įvairia veikla, ir apie akių simptomus, atsiradusius dėl skirtingų aplinkos veiksnių. Kiekvienas klausimas vertintas balais nuo 0 iki 4. Atsakymų rezultatai apskaičiuoti pagal OSDI formulę (sudedant visus atsakymus, padauginant iš 25 ir padalijant iš atsakytų klausimų skaičiaus) ir rezultatas vertintas nuo 0 iki 100 balų, kai didesnis balas rodo ryškesnę patologiją. Tiriamiesiems surinkus 0–12 balų, vertinta, kad jie akių sausumo nejaučia. Lengvą akių sausumą galima įtarti, kai tiriamieji surenka 13–22 balus, vidutinį – surinkus 23–32 balus ir sunkų – surinkus daugiau nei 33 balus [10].

Po apklausos tiriamiesiems buvo atliekamas Širmerio mėginys. Širmerio mėginys atliekamas standartine filtrine popierine juostele (5×35 mm), ją užkišant už apatinio voko, o rezultatai vertinti po 5 min. Normalia ašarų sekrecija laikyta, kai juostelė sudrėksta >15 mm, lengvas SAS, kai juostelė sudrėksta 6–14 mm, vidutinis

SAS, kai 5–2 mm ir sunkus SAS, kai sudrėksta <2 mm. Duomenų analizei buvo pasirinkta tiriamųjų dešinės akies Širmerio mėginio rezultatai.

Iš ligos istorijų surinkti tiriamųjų PSG tyrimo duomenys, pagal kuriuos jie buvo suskirstyti į kontrolinę ir sergančiųjų OMA grupę. OMA diagnozuota, jeigu tiriamajam apnėjų ir hipopnėjų indeksas (AHI) buvo daugiau nei penki per valandą. OMA sunkumas buvo vertintas remiantis AHI. Kai AHI 5–15 įvykių/val., nustatyta lengva OMA, kai AHI 15–30 įvykių/val., nustatyta vidutinio sunkumo OMA, kai AHI >30 įvykių/val., nustatyta sunkios OMA diagnozė. Taip pat surinkti duomenys apie tiriamųjų lytį, amžių, kūno masės indeksą (KMI) ir vidutinį arterinio kraujo įsotinimą deguonimi (SpO₂) miego metu. Tyrimo metu buvo rinkti duomenys ir apie tiriamųjų gretutines ligas bei vartojamus vaistus, tačiau dėl mažų imčių šie duomenys nebuvo analizuoti.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant kompiuterinės programos statistikos paketą SPSS 26.0. Aprašomosios statistikos kiekybiniai duomenys procentais (proc.), kokybiniai ir ranginiai kintamieji aprašyti pateikiant jų reikšmių medianą ir mažiausią bei didžiausią reikšmes (min.–maks.). Kintamojo skirstinio normalumui patikrinti taikytas Shapiro–Wilk kriterijus. Kiekybinių kintamųjų, netenkinusių normaliojo skirstinio sąlygų, reikšmės tarp dviejų nepriklausomų grupių lygintos taikant Mann–Whitney kriterijų, o tarp daugiau nei dviejų nepriklausomų imčių – Kruskal–Wallis kriterijų. Ryšio stiprumas tarp skirtingų požymių vertintas taikant Spearman koreliacijos koeficientą. Rezultatai laikyti statistiškai reikšmingi, kai $p < 0,05$.

REZULTATAI

Iš viso tyrimo dalyvavo 53 pacientai, kurie buvo tirti Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje dėl miego apnėjos įtarimo. Pagrindiniai tiriamųjų duomenys pateikti pirmoje lentelėje.

Tiriamųjų PSG tyrimo duomenys pateikti antroje lentelėje. Remiantis AHI, 9 (20,9 proc.) tiriamiesiems nustatyta lengva OMA, 14 (32,6 proc.) tiriamųjų vidutinio sunkumo ir 20 (46,5 proc.) tiriamųjų sunki OMA.

Įvertinus visų tiriamųjų ašarų sekreciją Širmerio

1 lentelė. Tiriamųjų demografiniai duomenys

Požymis	Kontrolinė grupė (n=10)	Sergančiųjų OMA grupė (n=43)	p reikšmė
Lytis, n (proc.)	Moterys	20 (46,5)	0,8
	Vyrai	23 (53,5)	
Amžius (metais) mediana (min.–maks.)	50,50 (31–69)	60 (32–79)	0,27
KMI (kg/m ²) mediana (min.–maks.)	28,2 (16,41–34,89)	34,34 (25,02–53,12)	0,005

KMI – kūno masės indeksas, OMA – obstrukcinė miego apnėja.

mėginiu, gauta, kad 16 (30,2 proc.) tiriamųjų ji atitiko normos ribas (mediana – 18 (15–35) mm). Lengvas akių sausumas nustatytas 23 (43,4 proc.) tiriamiesiems, kurių ašarų sekrecijos mediana buvo 8 (6–14) mm, vidutinio sunkumo – 14 (26,4 proc.) tiriamųjų, kurių ašarų sekrecijos mediana – 4 (2–5) mm, o sunkus akių sausumas tiriamiesiems nebuvo nustatytas.

Apskaičiavus OSDI balus, gauta, kad 14 (26,4 proc.) tiriamųjų SAS nevargino (remiantis OSDI klausimynu, norma).

Lengvam SAS būdingus simptomus išsakė 5 (9,4 proc.) tiriamieji, kurių OSDI balų mediana – 15,6 (13,8–22,9). Vidutinio sunkumo SAS būdingus simptomus išsakė 8 (15,1 proc.) tiriamieji, kurių OSDI balų mediana buvo 30,25 (25–31,8), o sunkus SAS vargino 26 (49 proc.) tyrimo dalyvius, kurių OSDI balų mediana buvo 51 (33,3–87,5).

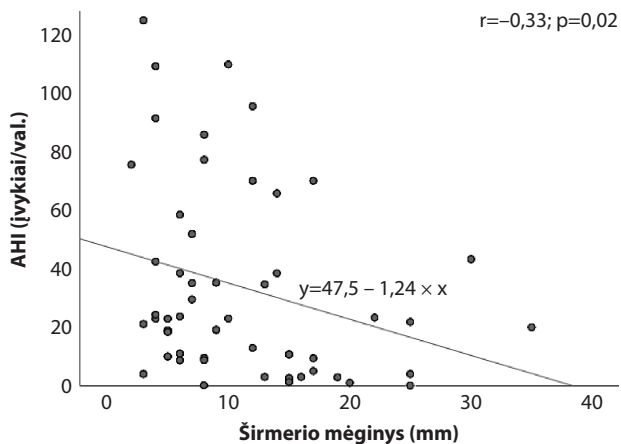
Palyginus Širmerio mėginio duomenis tarp tiriamųjų grupių, rasta, kad kontrolinės grupės ašarų sekrecija buvo reikšmingai didesnė nei sergančiųjų OMA ($p=0,019$), o OSDI balai tarp tiriamųjų grupių reikšmingai nesiskyrė ($p=0,086$) (3 lentelė).

Nustatytas vidutinio stiprumo atvirkštinis ryšys tarp tiriamųjų ašarų sekrecijos ir AHI ($r=-0,33$, $p=0,02$), o tarp OSDI balų rezultatų ir AHI – vidutinio stiprumo tiesioginis ryšys ($r=0,29$, $p=0,03$) (1, 2 pav.). Rastas atvirkštinis ryšys tarp tiriamųjų Širmerio mėginio rezultatų ir OSDI balų ($r=-0,49$, $p=0,001$) (3 pav.).

Tarp tiriamųjų amžiaus, lyties, KMI, vidutinės SpO_2 miego metu ir Širmerio mėginio rezultatų bei OSDI balų reikšmingų ryšių nenustatyta ($p>0,05$).

REZULTATŲ APITARIMAS

Sausų akių sindromas yra akies homeostazę pažeidžianti liga, kurios metu sumažėja ašarų gamyba ir padidėja jų osmoliariškumas [11]. Ši liga pacientams dažnai trikdo kasdienę veiklą, nes sukelia akių degi-



1 pav. Ašarų sekrecijos ryšys su tiriamųjų apnėjų–hipopnėjų indeksu

2 lentelė. Polisomnografijos tyrimo duomenys

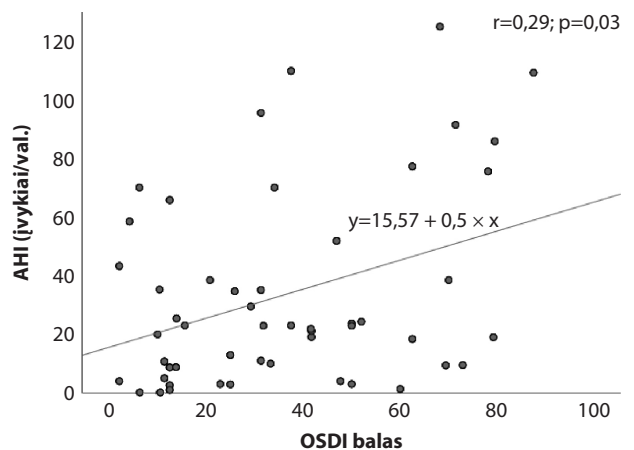
Požymis	Kontrolinė grupė (n=10)	Lengva OMA (n=9)	Vidutinė OMA (n=14)	Sunki OMA (n=20)	p reikšmė
AHI (įvykiai/val.), mediana (min.–maks.)	2,75 (0–4)	9,5 (5–12,9)	22,9 (18,40–29,50)	67,95 (34,70–125)	0,001
Vidutinė SpO_2 miego metu (proc.), mediana (min.–maks.)	95* (91–98)	94 (86–95)	93 (82–95)	91 (78–94)	0,001

OMA – obstrukcinė miego apnėja, AHI – apnėjų–hipopnėjų indeksas, vidutinė SpO_2 – vidutinis arterinio kraujo įsotinimas deguonimi. *reikšmingai skyrėsi vidutinė SpO_2 tarp kontrolinės grupės bei sunkia obstrukcine miego apnėja sergančių tiriamųjų.

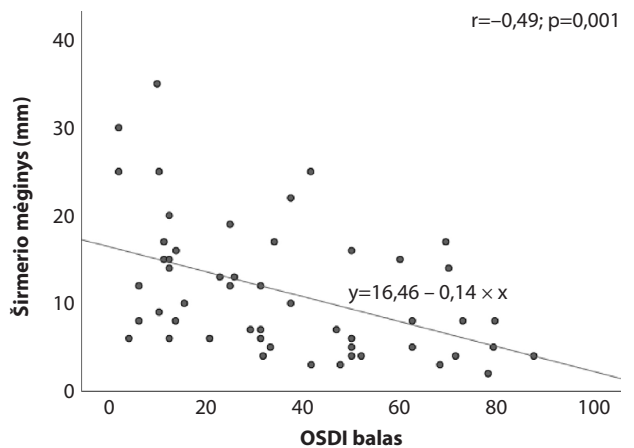
3 lentelė. Tiriamųjų Širmerio mėginio ir OSDI klausimyno rezultatai

Požymis	Kontrolinė grupė (n=10)	Sergančiųjų OMA grupė (n=43)	p reikšmė
Širmerio mėginio rezultatai (mm) mediana (min.–maks.)	15,5 (3–25)	7,5 (2–35)	0,019
OSDI balas mediana (min.–maks.)	17,7 (2,1–60)	38,8 (2,1–87,5)	0,086

OMA – obstrukcinė miego apnėja, OSDI – Akių paviršiaus ligų klausimynas.



2 pav. Akių paviršiaus ligų klausimyno rezultatų ryšys su tiriamųjų apnėjų–hipopnėjų indeksu



3 pav. Akių paviršiaus ligų klausimyno ryšys su Širmerio mėginio rezultatais

Moksliniai darbai ir apžvalgos

nimo, perštelėjimo, sausumo ir kitus akių diskomforto simptomus [12]. Vietinės ir sisteminės ligos gali trikdyti normalią ašarų sistemos veiklą, dėl to vyksta pokyčiai akies paviršiuje ir vystosi sausų akių sindromas. Dažniausiai SAS atsiradimas yra siejamas su Sjogreno sindromu, reumatoidiniu artritu, cukriniu diabetu, glaukoma, skydliaukės ligomis [11]. Pastaraisiais metais pasirodė naujų tyrimų apie SAS pasireiškimą sergantiesiems OMA [6, 7]. Literatūroje aprašomi du galimi mechanizmai, kurie galėtų paaiškinti, kaip OMA gali sukelti SAS. Sergant OMA, ilgalaikė protarpinė hipoksija organizme sukelia sisteminių uždegiminių atsaką ir suintensyvėja uždegiminių mediatorių – TNF-alfa, IL-1, IL-6 – gamyba [7, 8, 13]. Citokinai, patenkantys iš išsiplėtusių junginės kraujagyslių ir pažeistų epitelio ląstelių, sukelia nuolatinę uždegiminę būklę akyje. Esant aukštam AHI, atsiranda mechaninis audinių žalojimas, ilgėja hipoksijos trukmė ir didėja akies paviršiaus uždegimas, dėl kurių prastėja Meibomo liaukų ir taurinių ląstelių funkcija [8, 13]. Dėl šių ašarų liaukų funkcijos sutrikimo, trinka ašarų plėvelės lipidinio sluoksnio veikla ir ašarų plėvelės stabilumas [8, 14, 15]. Vykstant šiam procesui, prastėja ašarų plėvelės kokybė ir vystosi SAS dėl padidėjusio ašarų garavimo. Kitas galimas SAS mechanizmas, sergant OMA, yra sumažėjusi ašarų gamyba dėl ašarų liaukų veiklos sutrikdymo. Uždegiminiai mediatoriai ilgą laiką veikdami ašarų liaukų kečines ir latakų epitelio ląsteles, sukelia jų disfunkciją ir (arba) destrukciją. Sutrikus šių ląstelių veiklai, sutrinka ir ašarų gamyba bei sekrecija, o dėl to vystosi SAS [8, 14].

Sausos akies diagnozavimui dažniausiai naudojamas Širmerio mėginys ir ašarų plėvelės trūkio laiko (angl. *Tear film break-up time*, TBUT) vertinimas [16]. Šio tyrimo metu neatlikome TBUT mėginio, nes pacientai buvo tirti Pulmonologijos klinikoje, kurioje nebuvo mėginiui reikalingos įrangos ir jis nebuvo numatytas. Vertinant SAS, naudojami specialūs klausimynai. Savo tyrime mes naudojome OSDI klausimyną, kuris yra greitas, lengvai pritaikomas, standartizuotas SAS diagnostikai [10, 16, 17]. OSDI klausimyno vertimas į lietuvių kalbą yra patvirtintas „MAPI Research Trust“ organizacijos [10].

Vertinant tiriamųjų ašarų sekreciją Širmerio mėginiu, nustatėme, kad kontrolinės grupės tiriamųjų ašarų sekrecija atitiko normos ribas, o sergančiųjų OMA buvo reikšmingai sumažėjusi. Taip pat nustatėme, kad, didėjant AHI (t. y. esant sunkesnei OMA), reikšmingai sumažėja ašarų sekrecija. E. Karaca ir bendraautorių tyrime apie OMA ryšį su sausų akių sindromu, ašarų sekrecijos mėginio rezultatai buvo panašūs į mūsų – kontrolinės grupės tiriamųjų ašarų sekrecija atitiko normos ribas, o sunkėjant OMA, reikšmingai mažėjo Širmerio mėginio rezultatai [6]. M. Acar ir bendraautorių tyrime nustatyta, kad vidutinės ir sunkios OMA atvejais būna

reikšmingai sumažėjusios Širmerio mėginio reikšmės [7]. E. Karaca ir bendraautoriai taip pat vertino TBUT, kuris reikšmingai trumpėjo sunkėjant OMA [6].

Įvertinę akies paviršiaus ligų klausimyno rezultatus, nustatėme, kad ir kontrolinės grupės tiriamieji, ir sergantieji OMA turėjo simptomų, susijusių su sausomis akimis. Tyrime stebėta tendencija, kad sergantieji OMA turėjo daugiau simptomų, susijusių su SAS, nei nesergantys asmenys. E. Karaca ir bendraautorių atlikto tyrimo duomenimis, sergantieji OMA reikšmingai dažniau skundėsi sausų akių diskomforto simptomais, palyginus su nesergančiais asmenimis [6]. Mūsų nustatytos OSDI reikšmės (kontrolinės grupės OSDI balas buvo 17, o sergančiųjų OMA – 38) buvo panašios į kitų autorių duomenis. E. Karaca ir bendraautorių duomenimis, nesergančių OMA asmenų OSDI balas buvo 17, o sergančiųjų viršijo 40 balų bei vis didėjo sunkėjant OMA [6]. M. Acar ir bendraautorių tyrime sergantiesiems vidutine ir sunkia OMA forma taip pat buvo pastebėtas reikšmingai didesnis OSDI balas [7]. Mes taip pat nustatėme, kad, sunkėjant OMA (didėjant AHI), pacientai turėjo daugiau simptomų, susijusių su sausomis akimis.

Tyrime tirti tik naujai OMA diagnozuoti pacientai, nes besigydantieji nuolatinio teigiamo slėgio ventiliacijos aparatu susiduria su akių sausumo simptomais dėl kaukės pralaidumo orui ir nuolatinio akies paviršiaus dirginimo juo [9, 18]. Todėl taip pašalintas nepageidaujamas ventiliacinės kaukės poveikis tiriamiesiems.

Apibendrinus galima teigti, kad šio tyrimo rezultatai yra panašūs į naujausių panašaus pobūdžio tyrimų pasaulyje. Ateityje reikėtų atlikti didesnės apimties tyrimus, norint nustatyti SAS paplitimą tarp OMA pacientų mūsų populiacijoje, taip pat įtraukti daugiau SAS diagnostinių tyrimų, kurie padėtų įvertinti sausos akies atsiradimo patogenetinį mechanizmą. Plečiant tiriamųjų imtį, būtų galima nagrinėti ir gretutinių ligų bei įvairių medikamentų ryšį su SAS. Vertinant polisomnografijos tyrimo duomenis, ateityje būtų tikslinga atkreipti dėmesį į daugiau rodiklių, pvz., deguonies desaturacijos indeksą, žemiausią SpO₂, prabudimų indeksą, kur galbūt taip pat rastume ryšį su akies sausumu.

IŠVADOS

Pacientams, sergantiems OMA, nustatyta mažesnė ašarų sekrecija ir tendencija, kad sergantieji OMA turėjo daugiau SAS būdingų simptomų nei nesergantys asmenys. Didesnis AHI koreliavo su mažesne ašarų sekrecija ir daugiau išreikštais SAS simptomais.

Gauta 2020 10 12

Priimta 2021 01 18

LITERATŪRA

1. Berry R, Budhiraja R, Gottlieb D, Gozal D, Iber C, Kapur V, et al. Rules for Scoring Respiratory Events in Sleep: Update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. *J Clin Sleep Med.* 2012;8(5):597–619.

- Kapur V, Auckley D, Chowdhuri S, Kuhlmann D, Mehra R, Ramar K, et al.** Clinical Practice Guideline for Diagnostic Testing for Adult Obstructive Sleep Apnea: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med.* 2017;13(3):479–504.
- Pellegrini M, Bernabei F, Friehmann A, Giannaccare G.** Obstructive Sleep Apnea and Keratoconus. *Optom Vis Sci.* 2020;97(1):9–14
- Mojon D, Hess C, Goldblum D, Fleischhauer J, Koerner F, Bassetti C, et al.** High prevalence of glaucoma in patients with sleep apnea syndrome. *Ophthalmology.* 1999;106(5):1009–1012.
- Mohamed E, Massoud T.** Effect of sleep related breathing disorders on ocular function. *Egypt J Chest Dis Tuberc.* 2014;63(3):663–9.
- Karaca EE, Akçam HT, Uzun F, Özdek Ş, Çiftçi TU.** Evaluation of Ocular Surface Health in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Turk J Ophthalmol.* 2016;46(3):104–8.
- Acar M, Firat H, Acar U, Ardic S.** Ocular surface assessment in patients with obstructive sleep apnea–hypopnea syndrome. *Sleep Breath.* 2012;17(2):583–8.
- Bron A, de Paiva C, Chauhan S, Bonini S, Gabison E, Jain S, et al.** TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf.* 2017;15(3):438–510.
- Cynthia Matossian, Xue Song, Ishveen Chopra, Abayomi Ogundele.** Incidence of Dry Eye Disease Among Patients with Continuous Positive Airway Pressure or Other Nasal Mask Therapy Devices to Treat Sleep Apnea in the United States. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2020;61(7):157.
- Eprovide.mapi-trust.org.** 2020. OSDI – Ocular Surface Disease Index. Available at: <https://eprovide.mapi-trust.org/instruments/ocular-surface-disease-index?fbclid=IwAR3pJBCjrKKxr9jaFXZUdjUGVIOotEu44wgaEmrYgs0CDQYcnS-_LZhKL1A> (Accessed 20 November 2020).
- Craig J, Nelson J, Azar D, Belmonte C, Bron A, Chauhan S, et al.** TFOS DEWS II Report Executive Summary. *Ocul Surf.* 2017;15(4):802–12.
- Barabino S, Labetoulle M, Rolando M, Messmer E.** Understanding Symptoms and Quality of Life in Patients With Dry Eye Syndrome. *Ocul Surf.* 2016;14(3):365–76.
- Lima FFD, Mazzotti DR, Tufik S, Bittencourt L.** The role inflammatory response genes in obstructive sleep apnea syndrome: a review. *Sleep Breath.* 2015;20(1):331–8.
- Javadi MA, Feizi S.** Dry eye syndrome. *J Ophthalmic Vis Res.* 2011;6(3):192–8.
- Bron A, Tiffany J, Gouveia S, Yokoi N, Voon L.** Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res.* 2004;78(3):347–60.
- Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K, et al.** TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *Ocul Surf.* 2017;15:539e74.
- Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G, Hirsch JD, Reis BL.** Reliability and Validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(5):615–21.
- Bommert C, Grupcheva C, Radeva M, Grupchev D, Boyadzieva M.** Sleep apnea and dry eye: how sleep apnea affects the eye surface. *OphthaTherapy.* 2020;7(2):103–7.

Mokslinės tezės

Alergenų aktyvintų eozinofilų potipių poveikis bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijai ir gyvybingumui sergant alergine astma

THE EFFECT OF ALLERGEN-ACTIVATED EOSINOPHIL SUBTYPES ON AIRWAY SMOOTH MUSCLE CELLS PROLIFERATION AND VIABILITY IN ALLERGIC ASTHMA PATIENTS

EGLĖ JURKEVIČIŪTĖ¹, ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS¹, IEVA JANULAITYTĖ¹, AIRIDAS RIMKŪNAS¹, BEATRIČĖ TAMAŠAUSKAITĖ¹, JOLITA PALAČIONYTĖ², VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ², KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika

Įvadas. Alerginės astmos (AA) paūmėjimas yra tiesiogiai susijęs su intensyvesniu eozinofiliniu kvėpavimo takų uždegimu. Manome, kad skirtingų eozinofilų potipių – plaučių rezidentinių eozinofilų (Eos_{rez}) bei uždegiminių eozinofilų (Eos_{uzd}) atsakas į bronchų provokacinį mėginį alergenu bei įtaka bronchų lygiųjų raumenų (BLR) ląstelių proliferacijai ir gyvybingumui sergant AA gali būti skirtinga. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti alergenu aktyvintų Eos_{rez} ir Eos_{uzd} potipių įtaką BLR ląstelių proliferacijai ir gyvybingumui sergant AA. **Tyrimo metodai ir tiriamieji.** Tyrime dalyvavo 13 naujai diagnozuotų AA pacientų. Visiems tiriamiesiems buvo atliktas bronchų provokacinis mėginys *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu. Eozinofilai iš periferinio kraujo išskirti centrifugavimo aukšto tankio gradiente ir magnetinio atskyrimo būdu, jų potipiai atskirti naudojant magnetinę žymę žymėtus antikūnus prieš CD62L. Visiems tiriamiesiems buvo paruošiamos individualios kombinuotosios ląstelių kultūros tarp išskirtų eozinofilų potipių ir nemirtingų BLR ląstelių. BLR ląstelių proliferacija nustatyta Alamaro mėlio analize, gyvybingumas – aneksino V-propidžio jodido dažymo metodu. **Rezultatai.** Nustatyta, kad Eos_{rez} labiau skatino BLR ląstelių proliferaciją nei Eos_{uzd} : $21,1 \pm 4,5$ proc., ir $7,0 \pm 3,4$ proc., lyginant su kontrolinėmis BLR ląstelėmis, inkubuotomis be eozinofilų ($p < 0,001$). Panaši tendencija išliko ir 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu: Eos_{rez} proliferaciją skatino $29,8 \pm 6,2$ proc., o Eos_{uzd} – $18,1 \pm 3,8$ proc. ($p < 0,005$). Pastebėta, kad bronchų provokacija sustiprino tik Eos_{uzd} poveikį BLR ląstelių proliferacijai ($p < 0,05$). Taip pat įvertinta, kad Eos_{rez} labiau slopino BLR ląstelių apoptozę, lyginant su Eos_{uzd} : atitinkamai BLR apoptotinių ląstelių skaičius sumažėjo $20,3 \pm 4,7$ proc. ir $3,5 \pm 5,6$ proc., lyginant su kontrolinėmis BLR ląstelėmis, inkubuotomis be eozinofilų ($p < 0,05$). Bronchų provokacija alergenu reikšmingai sustiprino tik Eos_{uzd} poveikį BLR ląstelių gyvybingumui. Po sąveikos su aktyvintais Eos_{uzd} apoptotinių BLR ląstelių skaičius kultūroje sumažėjo $22,4 \pm 4,7$ proc. ($p < 0,005$). **Išvados.** Bronchų provokacija *D. pteronyssinus* alergenu neturėjo įtakos Eos_{rez} aktyvumui, tačiau sustiprino Eos_{uzd} poveikį BLR ląstelių proliferacijai ir gyvybingumui sergant AA.

Tarpląstelinio užpildo reikšmė eozinofilų adhezijai bei plaučių struktūrinių ląstelių proliferacijai sergant astma

THE ROLE OF EXTRACELLULAR MATRIX IN EOSINOPHIL ADHESION AND PULMONARY STRUCTURAL CELL PROLIFERATION IN ASTHMA

AIRIDAS RIMKŪNAS¹, ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS¹, IEVA JANULAITYTĖ¹, EGLĖ JURKEVIČIŪTĖ¹, BEATRIČĖ TAMAŠAUSKAITĖ¹, JOLITA PALAČIONYTĖ², VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ², KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika

Įvadas. Tarpląstelinio užpildo sudėtis kvėpavimo takuose, sergant astma, pakinta dėl vyraujančio eozinofilinio uždegimo. Plaučių struktūrinių ląstelių atsakas į eozinofilų sutrikdytą tarpląstelinį užpildą gali prisidėti prie kvėpavimo takų remodeliacijos vystymosi sergant astma. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti eozinofilų adhezijos prie plaučių struktūrinių ląstelių ir tarpląstelinio užpildo baltymų (TUB) skirtumus bei šių baltymų poveikį plaučių struktūrinių ląstelių proliferacijai sergant astma. **Tyrimo metodai.** Į tyrimą buvo įtraukti 11 alergine astma (AA) sergantys pacientai, 6 sunkia eozinofiline astma (SEA) sergantys pacientai bei 11 nerūkantys sveiki asmenys (SA). Eozinofilai iš tiriamųjų kraujo buvo išskirti naudojant centrifugavimą aukšto tankio Ficoll gradientė ir magnetinę separaciją. Kiekvienam tiriamajam buvo sudaromos individualiosios kombinuotosios kultūros tarp išskirtų eozinofilų ir plaučių struktūrinių ląstelių: žmogaus bronchų lygiųjų raumenų (BLR) ląstelių bei plaučių fibroblastų arba jų išskirtų TUB. Nusėdę ant ląstelių kultūrų lėkštelių dugno TUB išgryninti ląsteles lizuojant amonio hidroksidu. Eozinofilų adhezinės savybės įvertintos matuojant eozinofilų peroksidazės aktyvumą kombinuotosiose kultūrose; ląstelių proliferacija įvertinta naudojant Alamaro mėlio reagentą. **Rezultatai.** Po 1 val. nuo kombinuotųjų kultūrų sudarymo, AA grupėje prie BLR ląstelių ir plaučių fibroblastų stabiliai prisitvirtino atitinkamai – 76,8±2,2 ir 81,7±1,1 proc. įpiltų eozinofilų, o prie jų išskirtų struktūrinių TUB – atitinkamai 89,0±1,0 ir 89,6±0,7 proc. SEA grupėje – atitinkamai 69,0±5,3 ir 77,1±3,9 proc. prie BLR ląstelių ir plaučių fibroblastų bei 90,2±0,8 ir 87,8±2,0 proc. prie jų išskirtų TUB; SA grupėje – 57,2±5,4 ir 61,4±10,9 proc. bei 76,6±1,0 ir 71,2±6,7 proc. Eozinofilų adhezija tarp astmos grupių patikimai nesiskyrė, bet buvo didesnė, lyginant su SA (p<0,05). Taip pat, visose grupėse adhezija prie TUB buvo reikšmingai didesnė, lyginant su adhezija prie plaučių struktūrinių ląstelių (p<0,05), išskyrus SEA eozinofilų adheziją prie plaučių fibroblastų. Išskirti TUB po kombinuotųjų kultūrų su eozinofilais sudarymo skatino plaučių struktūrinių ląstelių proliferaciją, atitinkamai BLR ląstelių skaičius po 48 val. buvo 10,4±1,2 proc. didesnis AA grupėje, 10,7±1,0 proc. SEA grupėje ir 5,7±0,8 proc. SA grupėje (p<0,05), plaučių fibroblastų – atitinkamai 7,5±1,0 proc. didesnis AA grupėje, 8,0±1,0 proc. SEA grupėje ir 3,6±1,0 proc. SA grupėje (p<0,05), lyginant su ląstelėmis, augintomis su eozinofilais nepaveiktais TUB. Reikšmingų skirtumų tarp astmos grupių nenustatyta, tačiau proliferacija buvo intensyvesnė lyginant su SA grupe (p<0,05). **Išvados.** Sergančiųjų astma eozinofilai intensyviau prisitvirtina prie TUB, lyginant su sveikų asmenų eozinofilais. Po sąveikos su eozinofilais pakitusi plaučių struktūrinių ląstelių TUB gamyba autokrininiu būdu skatina jų proliferaciją sergant astma.

Vitamo D receptoriaus ir vitamino D surišančio baltymo genų polimorfizmų sąsajos su vitamino D ir IgE kiekiu sergant astma

ASSOCIATION OF VITAMIN D RECEPTOR AND VITAMIN. D-BINDING PROTEIN GENE POLYMORPHISMS WITH VITAMIN D AND TOTAL IGE LEVELS IN ASTHMA

DAINA BASTYTĖ^{1,2}, LAURA TAMAŠAUSKIENĖ^{1,2}, IEVA GOLUBICKAITĖ³, RASA UGENSKIENĖ³, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ¹

¹LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika, ²LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinikos Imunologijos laboratorija, ³LSMU MA Genetikos ir molekulinės medicinos klinika

Įvadas. Mokslinių tyrimų duomenimis, astmos patogenezėje svarbus vaidmuo skiriamas vitaminui D, kuris, manoma, pasižymi uždegimą slopinančiu poveikiu. Aktyvi vitamino D forma veikia prisijungdama prie vitamino D receptoriaus (VDR), kurį koduoja VDR genas. GC genas koduoja vitamino D surišantį baltymą. VDR ir GC genų polimorfizmai gali būti susiję su vitamino D koncen-

Moksliniai darbai ir apžvalgos

tracijos kitimu, turėti įtakos astmos patogenezei. **Tyrimo tikslas.** Ištirti VDR (rs7975232, rs1544410, rs731236, rs3847987, rs2228570, rs11168293), GC (rs4588, rs7041, rs3733359) genų vieno nukleotido polimorfizmus sergant astma, įvertinti jų sąsajas su vitamino D ir imunoglobulino (Ig) E kiekiu kraujyje. **Tyrimo metodai.** Tirti sergančiųjų astma (diagnozuota pagal Visuotinę astmos iniciatyvą) bei kontrolinės grupės (sveikų asmenų) kraujo mėginiai. DNR išskirta naudojant QIAamp DNA rinkinį (Qiagen, Hilden, Vokietija). Naudojant TaqMan SNP Genotyping Assays zondus, išanalizuoti devyni polimorfizmai VDR ir GC ir genuose, atitinkamai – 12q13.11, 4q13.3 ir 15q25.2 chromosomų srityse. Tiriamųjų įsijautrinimas alergenams nustatytas atlikus odos dūrio mėginius. Vitamino D ir bendro IgE kiekis kraujo serume nustatyti standartiniu ELISA metodu. Remiantis Tarptautinės endokrinologų draugijos gairėmis, tiriamieji suskirstyti į grupes pagal vitamino D kiekį: stygius – <20 ng/ml, nepakankamumas – 20–30 ng/ml, normalus kiekis – 30–50 ng/ml. **Rezultatai.** Ištirti 63 asmenys, sergantys astma (45 – alergine astma, 18 – nealergine), ir 32 sveiki asmenys. Vitamino D stygius sergantiesiems astma buvo nustatytas dažniau nei sveikiems (85,7 proc. ir 43,8 proc., $p<0,001$). Rs11168293 G alelis dažniau aptiktas astma sergantiems asmenims, kuriems nustatytas vitamino D stygius nei tiems, kuriems nustatytas vitamino D nepakankamumas (81,5 proc. ir 50 proc., $p<0,05$). Reikšmingai didesnis IgE kiekis buvo rastas asmenims, sergantiems alergine astma, kuriems nustatytas rs7041 A alelis, nei tiems, kuriems jo nerasta (536,4±106,14 ir 239,02±75,82 IU/ml, $p\leq 0,05$). Vertinant sergančiuosius alergine astma, pastebėta tendencija, kad didesnis IgE kiekis nustatytas pacientams, kuriems rastas rs3847987 C alelis, nei pacientams, kuriems jo nerasta (449,26±67,41 ir 107,08±53,01 IU/ml, $p=0,08$). **Išvada.** Kai kurių polimorfizmų, rs11168293 G alelio ir rs7041 A alelio, ryšys su vitamino D ir IgE kiekiu, sergant astma, bei šios ligos metu dažniau nustatomas vitamino D stygius, leidžia daryti prielaidą apie vitamino D ir jo receptoriaus genų polimorfizmų reikšmę astmos patogenezei.

IL-17 ir IL-33 ryšys su kitais uždegimo žymenimis sergant namų dulkių erkių alergenų sukeltomis kvėpavimo takų ligomis

RELATION OF IL-17 AND IL-33 WITH OTHER INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH ALLERGIC AIRWAY DISEASES CAUSED BY HOUSE DUST MITES

LAURA TAMAŠAUSKIENĖ, VILTĖ KRIŠTOPAITYTĖ, VILTĖ MARIJA GINTAUSKIENĖ,
EDITA GASIŪNIENĖ, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ
LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

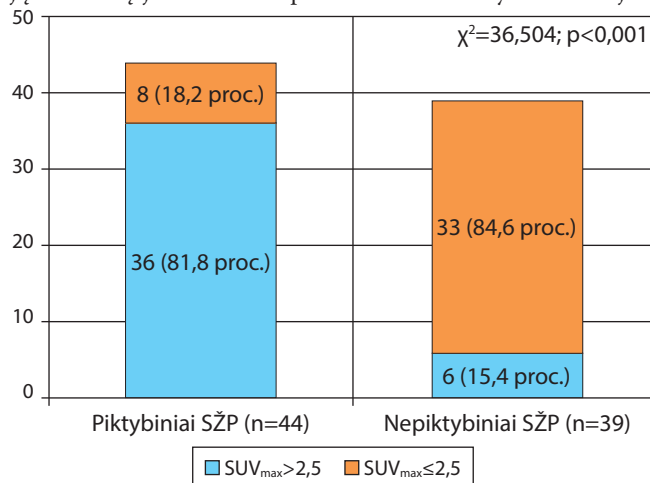
Įvadas. Alerginio rinito (AR) ir alerginės astmos (AA) paplitimas didėja visame pasaulyje. Vienas dažniausių priežastinių veiksnių yra namų dulkių erkių (NDE) alergenai. Alerginės ligos išsivysto pakitus 1-ojo tipo T limfocitų pagalbininkų (Th1) ir 2-ojo tipo T limfocitų pagalbininkų (Th2) santykiui. Neseniai mokslinėje literatūroje pateikta duomenų, kad 17-ojo tipo T limfocitų pagalbininkų (Th17) ir jų išskiriamas interleukinas (IL) 17 taip pat gali dalyvauti alerginių ligų patogenezėje. Manoma, kad IL-17 ir IL-33, vieni iš naujai aprašytų uždegimą skatinančių citokinų, sąveikauja tarpusavyje ir taip indukuoja uždegiminiuosius procesus. **Tyrimo tikslas.** Ištirti IL-17 ir IL-33 kiekį sergant NDE alergenų sukeltomis kvėpavimo takų ligomis bei nustatyti šių citokinų ryšį su eozinofilų kiekiu ir bendrojo imunoglobulino (Ig) E kiekiu. **Tyrimo metodai.** Įtraukti pacientai, kuriems diagnozuota AA (pagal Visuotinę astmos iniciatyvą) ir (arba) nuolatinis AR (pagal Alerginio rinito ir jo įtakos astmai iniciatyvą), kurių simptomų trukmė ≥ 2 metai, bei sveiki asmenys. Įsijautrinimas alergenams įvertintas atlikus odos dūrio mėginius. Paimtas nosies lavažo skystis (pagal Hentschel ir kt., 2014), tirtas eozinofilų kiekis kraujyje ir nosies sekrete, bendrasis IgE serume. IL-17 ir IL-33 kiekis tirtas nosies lavažo skystyje ir serume naudojant komercinį ELISA rinkinį. **Rezultatai.** Tirtas 81 pacientas: 42 sergantys AR, 21 – AR ir AA ir 18 sveikų asmenų. IL-17 ir IL-33 kiekis reikšmingai nesiskyrė tarp pacientų, sergančių alerginėmis kvėpavimo takų ligomis, ir sveikų tiriamųjų (IL-17 nosies lavaže – 15,17±2,70 pg/ml ir 23,10±11,13 pg/ml; serume – atitinkamai 38,55±16,44 pg/ml ir 13,01±6,22 pg/ml; IL-33 nosies lavaže – 8,78±1,54 pg/ml ir 13,72±7,64 pg/ml; serume – 11,90±5,72 pg/ml ir 3,71±1,40 pg/ml). Pacientams, sergantiems alerginėmis kvėpavimo takų ligomis, nustatyta reikšmingai teigiama sąsaja tarp IL-33 ir IL-17 kiekio serume ($r=0,72$, $p<0,01$) ir nosies sekrete ($r=0,90$, $p<0,01$). IL-17 ir IL-33 kiekis serume buvo tiesiogiai susijęs su IgE kiekiu ($r=0,41$, $p<0,01$; $r=0,30$, $p<0,05$). Sergančiųjų AR ir AA IL-17 ir IL-33 kiekis nosies lavaže neigiamai koreliavo su eozinofilų kiekiu nosies sekrete ($r=-0,51$ ir $r=-0,55$, $p<0,05$). **Išvados.** Remiantis tyrimo rezultatais, galima daryti prielaidą, kad IL-17 ir IL-33 poveikis yra glaudžiai susijęs tarpusavyje bei su kitais imuniniais komponentais ir gali turėti įtakos NDE alergenų sukeltų kvėpavimo takų ligų patogenezei.

18F-FDG-PET/CT vertė diferencijuojant solitarinius židinius plaučiuose

THE VALUE OF 18F-FDG-PET/CT IN THE DIFFERENTIATION OF SOLITARY PULMONARY NODULES

INDRĖ ŠIMELIŪNAITĖ, JURGITA ZAVECKIENĖ, ILONA KULAKIENĖ
LSMU MA Radiologijos klinika

Įvadas. Nustačius didesnę nei 1 cm vidutinės arba didelės piktybiškumo rizikos solitarinį židinį plaučiuose (SŽP) be limfadenopatijos ir hidrotorakso požymių, rekomenduojama atlikti pozitronų emisijos tomografiją naudojant 18-fluoro-2-deoksi-gliukozę (18F-FDG-PET/CT). Piktybiniai SŽP dažniausiai yra metaboliškai aktyvūs, tačiau galimai klaidingai teigiami (nepiktybinis SŽP metaboliškai aktyvus) arba klaidingai neigiami (piktybinis SŽP metaboliškai neaktyvus) tyrimo rezultatai. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti 18F-FDG-PET/CT tyrimo vertę, diferencijuojant SŽP į piktybinius ir nepiktybinius. **Tyrimo metodai.** Retrospektyviai vertinti 2015–2018 m. LSMU ligoninės Kauno klinikose dėl SŽP atlikti 18F-FDG-PET/CT tyrimai. Standartine metodika židinio srityje apibrėžus intereso zoną automatiškai apskaičiuota maksimali standartizuota 18F-FDG kaupimo vertė (SUV_{max}). SŽP laikytas metaboliškai aktyviu, jei SUV_{max} vertė didesnė nei 2,5. Židiniai suskirstyti į piktybinius ir nepiktybinius, remiantis histologinio tyrimo ir radiologinio stebėjimo duomenimis (dvejus metus nepakitęs židinis laikytas nepiktybiniu). Duomenų analizei naudota IBM SPSS (versija 25.0) programa. Lyginamosiose grupėse kokybinių požymių reikšmių pasiskirstymas tikrintas taikant chi kvadrato (χ^2) homogeniškumo kriterijų. Rodiklių jautrumas ir specifiškumas nustatyti analizuojant ROC kreivę. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$. **Rezultatai.** Išanalizuoti 83 židiniai: 44 (56 proc.) piktybiniai ir 39 (47 proc.) nepiktybiniai. Piktybiniai SŽP (n=36; 81,8 proc.) dažniau buvo metaboliškai aktyvūs, lyginant su nepiktybiniais (n = 6; 15,4 proc.) ($p < 0,001$) (pav.). Klaidingai teigiamų tyrimų dažnis buvo 7,2 proc., o klaidingai neigiamų – 9,6 proc. ($p < 0,001$). 18F-FDG-PET/CT tyrimo jautrumas – 81,8 proc., specifiškumas – 84,6 proc., teigiama prognozinė vertė (TPV) – 85,7 proc., neigiama prognozinė vertė (NPV) – 80,5 proc. ROC kreivės analizė: PPROC=0,872; 95 proc. PI=0,787–0,956 ($p < 0,01$). Klaidingai neigiamų tyrimų grupėje dažniausiai nustatyti navikai buvo plaučių adenokarcinomos (n=6; 78 proc.). **Išvados.** 18F-FDG-PET/CT tyrimo TPV 85,7 proc., NPV 80,5 proc., klaidingai neigiami tyrimo rezultatai dažniausiai nustatyti adenokarcinomų atvejais.



Pav. Solitarinių židinių plaučiuose metabolinis aktyvumas

Feritino ir kitų kraujo rodiklių kiekio sumažėjimo įtaka vaikų sergamumui

THE IMPACT OF LOW FERRITIN AND OTHER BLOOD PARAMETERS ON MORBIDITY IN CHILDREN

LIGITA PILKYTĖ¹, EDITA GASIŪNIENĖ²

¹LSMU MA Medicinos fakultetas, ²LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Įvadas. Žmogaus imuninė sistema susiformuoja apie septintuosius gyvenimo metus. Susirgimų skaičius padažnėja vaikams pradėjus lankyti darželį, kur jie yra veikiami daugelio imuninei sistemai neatpažįstamų patogenų. Taigi, infekcijomis sergama dėl nebrandžios imuninės sistemos. Tačiau jei infekcijos yra per dažnos, per sunkios, trunka per ilgai arba yra sunkiai pagydomos, tai gali būti ir pirminio imunodeficito (PID) išraiška. Mes turime įtarti PID esant dviem arba daugiau įspėjamųjų PID

Moksliniai darbai ir apžvalgos

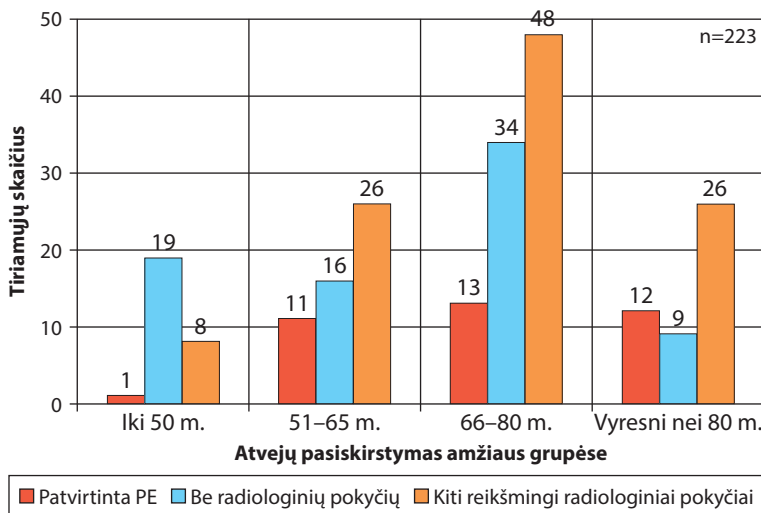
ženklų. Pirminiai imunodeficitai yra reti sutrikimai, kurie paveikia 0,08 proc. pasaulio populiacijos. Tačiau yra daugiau priežasčių, dėl kurių vaikai dažnai serga. Todėl, kai įtariamas PID, būtina išsiaiškinti ir kitas priežastis, galinčias sukelti dažną vaikų sergamumą infekcijomis. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti vaikų su įtariamu imunodeficitu humoralinio ir ląstelinio imuninio atsako parametrus, neutrofilų fagocitinę funkciją (NBT testą), bendrojo kraujo tyrimo rodiklius ir feritino kiekį. **Tyrimo metodai.** Atlikta retrospektyvioji 52 vaikų, kurie 2018–2020 m. buvo konsultuoti LSMU ligoninės Kauno klinikų Imunologijos ir alergologijos klinikoje, ambulatorinių kortelių duomenų analizė. Buvo surinkti duomenys apie pacientų amžių, lytį, ligos anamnezę, atliktus kraujo tyrimus: bendrąjį kraujo tyrimą, imunogramą, imunoglobulino (Ig) G, IgM, IgA, IgE, IgG poklasių, NBT ir feritino kiekį. **Rezultatai.** Tyrime dalyvavo 52 vaikai – 25 mergaitės (48,1 proc.) ir 27 berniukai (51,9 proc.). 13 vaikų (25 proc.) turėjo sumažėjusius humoralinio imuniteto rodiklius. Vertinant ląstelinio imuniteto rodiklius, statistiškai reikšmingų pokyčių nebuvo. NBT buvo tirta 33 vaikams ir 20 (60,6 proc.) jis buvo sumažėjęs. Keturios mergaitės (8 proc.) turėjo mažą hemoglobino koncentraciją. Maža feritino koncentracija buvo rasta 30 vaikų (60 proc.). Devyniems vaikams (17,3 proc.) buvo diagnozuotas imunodeficitas, jie turėjo mažesnius NBT rodiklius, lyginant su vaikais, nesergančiais imunodeficitu; $7,63 \pm 0,92$ proc.; palyginus su $17,42 \pm 2,68$ proc., $p < 0,05$. **Išvados.** Iš 52 pacientų 9 buvo diagnozuotas imunodeficitas, iš kurių dažniausiai nustatytas fagocituojančių ląstelių deficitas. Lyginant mergaičių ir berniukų imuninės sistemos parametrus, statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo. Dažnai sergantys vaikai nebūtinai turi imunodeficitą. Panašūs simptomai gali būti ir dėl žemo feritino kiekio.

Skubiosios pagalbos skyriuje atliktų krūtinės ląstos kompiuterinės tomografijos angiografijų rezultatų analizė

ANALYSIS OF THE RESULTS OF THE THORACIC COMPUTED TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHIES PERFORMED IN THE EMERGENCY DEPARTMENT

LAURYNAS KUČINSKAS, GRETA JURKEVIČIŪTĖ-KUČINSKIENĖ, JURGITA ZAVECKIENĖ
LSMA MA Radiologijos klinika

Įvadas. Kompiuterinės tomografijos angiografija (KTA) yra dažniausiai plaučių embolijos (PE) diagnostikai atliekamas tyrimo metodas. Didėjant KTA tyrimų prieinamumui, daugėja perteklinių ir nepagrįstų KTA skaičius. Tai susiję su neoptimaliu resursų panaudojimu ir lemia didėjančią medicininę apšvitą. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti Skubiosios pagalbos skyriuje atliktų KTA, įtariant PE, rezultatus ir jų sąsajas. **Tyrimo metodai.** Retrospektyviai įvertinti 2021 m. vasario mėnesį Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Skubiosios pagalbos skyriuje (SPS) atliktų KTA tyrimų dėl PE vaizdai, tirtųjų pacientų apšvitos bei medicininės dokumentacijos duomenys. KTA rezultatai suskirstyti į tris grupes: patvirtinta PE be radiologinių pokyčių ir patologija, kuri galėjo būti nustatyta kitais metodais. Pacientai suskirstyti į grupes pagal amžių. Analizuoti D-dimerų tyrimų rezultatai ir apšvitos dozių skirtumai grupėse, naudojant vieno faktoriaus dispersinę analizę (ANOVA). Kokybinių požymių reikšmių pasiskirstymas grupėse tikrintas taikant chi kvadrato (χ^2) homogeniškumo kriterijų. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$. **Rezultatai.** Analizuoti 223 KTA tyrimai. PE diagnozė patvirtinta 37 (16,6 proc.), be radiologiškai reikšmingų pokyčių – 80 (35,9 proc.), kiti reikšmingi radiologiniai pokyčiai, kurie galėjo būti nustatyti kitais tyrimų metodais, rasti 106 (47,5 proc.) tirtųjų. Atvejų pasiskirstymas amžiaus grupėse pateikiamas paveiksle. Trečioje tiriamųjų grupėje hidrotoraksas nustatytas 36 atvejais (16,1 proc.), vėžiniai pokyčiai – 10 (4,5 proc.), virusinės infekcijos požymiai – 18 (8,1 proc.), kiti uždegiminiai pokyčiai – 24 (10,8 proc.), veninė stazė – 9 (4,0 proc.), likusiems – kitos kilmės pokyčiai. Tiriamųjų amžiaus vidurkis buvo $\sim 68,8 \pm 15,0$ metų (minimalus – 21 metai, maksimalus – 101 metas), moterų amžiaus vidurkis buvo reikšmingai didesnis nei vyrų, atitinkamai $71,1 \pm 15,1$ metų ir $66,9 \pm 14,7$ metų. Laboratorinis D-dimerų tyrimas atliktas 100 pacientų (44,8 proc.). Tyrimų dažnis ir rezultatai grupėse reikšmingai nesiskyrė. KTA vidutinė apšvitos dozė buvo 7,1 mSv. Apšvitos dozės tarp



Pav. KTA rezultatų pasiskirstymas amžiaus grupėse

grupių reikšmingai nesiskyrė. Reikšmingo ryšio tarp vidutinės apšvitos dozės ir D-dimerų tyrimo rezultatų nenustatyta. **Išvados.** Atliekant krūtinės ląstos KTA Skubiosios pagalbos skyriuje, PE nustatyta tik šeštadaliui tirtųjų. Likusiems 83,4 proc. tiriamųjų KTA tyrimas buvo susijęs su pertekline medicinine apšvita.

Persirgusiųjų COVID-19 imuninės plazmos panaudojimas gydant sergančiuosius sunkia COVID-19. Vieno centro patirtis

THERAPEUTIC USE OF CONVALESCENT PLASMA IN SEVERE COVID-19: EXPERIENCE OF ONE CENTER

JUSTINA ŠEMATONYTĖ¹, IEVA BAJORIŪNIENĖ¹, DIANA REMEIKIENĖ², NERINGA VAGULIENĖ³, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ¹

¹LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika, ²LSMU MA Onkologijos ir hematologijos klinika,

³LSMU MA Pulmonologijos klinika

Įvadas. Pasaulyje intensyviai plintanti SARS-CoV-2 infekcija, sukianti ligą – COVID-19, ypač sunkias jos formas, neretai lemiančias letalias baigtis, tampa našta visuomenei. Kartu vyksta efektyvių COVID-19 gydymo būdų paieška. Siekiama pasitelkti imuninio atsako savybes – panaudoti persirgusiųjų COVID-19 kraujyje susidariusius antikūnus, kurie imuninės plazmos transfuzijos būdu skiriami sergantiesiems COVID-19, kuriems yra sunkių ligos formų rizika bei reikalingas gydymas stacionare. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti sergančiųjų sunkia COVID-19 gydymo imunine pasveikusiuoju nuo COVID-19 plazma įtaką klinikinei ligos eigai. **Tyrimo metodika.** Retrospektyviai analizuoti sirgusių sunkia COVID-19 forma pacientų duomenys (19 vyrų ir 21 moters, kurių vidutinis amžius – 64,97±15,78 metų), kurie buvo gydyti 2020 m. gruodžio mėn. – 2021 m. kovo mėn. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninėje Kauno klinikose. Ligos diagnozė buvo patvirtinta atsižvelgiant į klinikinius simptomus ir nustatius SARS-CoV-2 tepinėlyje iš nosiaryklės PGR metodu. Pacientams skirtas standartinis COVID-19 gydymas bei imuninė pasveikusiuoju nuo COVID-19 plazma (250–500 ml). Vertinti rodikliai: kūno temperatūra, kraujo įsotinimas deguonimi (SpO₂), deguonies srauto (O₂ l/min.) poreikis, kraujo leukocitų, limfocitų skaičius, C reaktyviojo baltymo (CRB), laktatdehidrogenazės (LDH), feritino, D-dimerų koncentracija kraujyje prieš gydymą ir 7–10-tą gydymo dieną. **Rezultatai.** Imuninė pasveikusiuoju nuo COVID-19 plazma buvo skirta vidutiniškai penktą dieną (vidurkis – 5,18±3,63 d.) nuo COVID-19 diagnozės patvirtinimo. Nustatyta, kad po 7–10 dienų gydymo reikšmingai sumažėjo kūno temperatūra – nuo 37,43±0,97 °C iki 36,33±0,55 °C bei deguonies srauto poreikis nuo 6,28±4,53 l/min. iki 3,42±1,51 l/min. (p<0,05). Skiriamo gydymo fone SpO₂ vertė reikšmingai nekito. Vertinant kraujo tyrimų duomenis, reikšmingai padidėjo limfocitų skaičius (0,73±0,55, palyginus su 1,28±1,27×10⁹/l), feritino koncentracija (635,91±346,59, palyginus su 902,33±169,16 µg/l), reikšmingai sumažėjo CRB (111,95±75,96, palyginus su 60,34±74,25 mg/l), LDH (338,42±154,68, palyginus su 174,73±223,38 U/l) (p<0,05). Vertinant kraujo leukocitų skaičių ir D-dimerų koncentraciją dinamikoje, reikšmingų pokyčių nenustatyta. **Išvados.** Remiantis sergančiųjų COVID-19, kuriems yra sunkių ligos formų rizika, gydymo imunine pasveikusiuoju nuo COVID-19 plazma duomenimis, galima daryti prielaidą, kad šis gydymo būdas, t. y. panaudojant susidariusius prieš SARS-CoV-2 antikūnus, gali pagerinti ligos eigą, prisidedant prie palankių ligos baigčių.

Moksliniai darbai ir apžvalgos

Kūno pletizmografijos reikšmė tikslinant plaučių ventilacijos sutrikimų pobūdį pacientams, kuriems spirometriškai nustatyta plaučių restrikcija

SIGNIFICANCE OF BODY PLETHYSMOGRAPHY SPECIFYING THE VENTILATION DYSFUNCTION PATTERNS IN PATIENTS WITH SPIROMETRIC RESTRICTION

JUSTAS LIDEIKIS, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Įvadas. Spirometriškai nustatytos plaučių restrikcijos metu proporcingai mažėjantys forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę (FEV_1) ir forsuota gyvybinė plaučių talpa (FVC) gali būti nesusiję su bendrosios plaučių talpos (TLC) sumažėjimu – pagrindiniu fiziologiniu plaučių restrikcijos požymiu. **Tyrimo tikslas.** Įvertinti kūno pletizmografijos reikšmę, tikslinant plaučių ventilacijos sutrikimų pobūdį pacientams, kuriems spirometriškai nustatyta plaučių restrikcija. **Tyrimo metodai.** Tyrimas buvo retrospektyvusis, į kurį įtraukti suaugę pacientai, kuriems spirometriškai nustatyta plaučių restrikcija, t. y. sumažėjusi FVC, esant normaliam FEV_1/FVC . Visiems pacientams buvo atlikta kūno pletizmografija, pagal kurios rezultatus buvo išskirti keturi plaučių ventilacijos sutrikimo pobūdžiai: 1) restrikcinis pobūdis (RP), kai TLC yra sumažėjęs (<5-ojo norminio dydžio procentilio); 2) mišrusis obstrukcinis/restrikcinis pobūdis (MORP), kai TLC yra sumažėjęs bei liekamojo tūrio (RV) ir TLC santykis padidėjęs (>95-ojo norminio dydžio procentilio); 3) obstrukcinis pobūdis (OP), kai TLC normalus, o RV/TLC padidėjęs; 4) nespecifinis pobūdis (NSP), kai TLC ir RV/TLC normalūs. **Rezultatai.** Į tyrimą buvo įtraukti 36 pacientai, kuriems spirometriškai nustatyta restrikcija: 21 vyras (amžiaus vidurkis – $65,0 \pm 12,9$ metų) ir 15 moterų (amžiaus vidurkis – $60,9 \pm 14,9$ metų). Remiantis kūno pletizmografijos rezultatais, pacientai buvo suskirstyti į keturias grupes: RP grupė, $n=12$ (33,3 proc. visų tiriamųjų); MORP grupė, $n=11$ (30,6 proc.); OP grupė, $n=9$ (25,0 proc.) ir NSP grupė, $n=4$ (11,1 proc.). RP grupėje nustatytos mažiausios RV vertės, palyginus su kitomis grupėmis, o OP grupėje – didžiausios specifinio kvėpavimo takų pasipriešinimo (sRaw) ir mažiausios specifinio kvėpavimo takų pralaidumo (sGaw) vertės. Nustatytas tiesioginis ryšys tarp visų tirtų asmenų TLC ir FVC verčių ($r=0,556$, $p<0,01$). **Išvados.** Kūno pletizmografija leidžia patikslinti ventilacijos sutrikimus pacientams, kuriems spirometriškai nustatyta plaučių restrikcija, nes tik trečdaliui šių pacientų patvirtinama plaučių restrikcija. Todėl kūno pletizmografija turėtų būti atliekama dažniau nustatant plaučių ventilacijos sutrikimo pobūdį.

Gydymo bedakvilinu veiksmingumo įvertinimas gydant daugeliui vaistų atsparią tuberkuliozę

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF BEDAQUILINE TREATMENT OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

BIRUTĖ NAKČERIENĖ, EDITA DAVIDAVIČIENĖ
VU Santaros klinikų Programų ir tuberkuliozės valstybės informacinės sistemos skyrius

Įvadas. Bedakvilinas yra bakteriocidinis vaistas, kuris sumažina kryžminio atsparumo vaistams nuo tuberkuliozės (TB) tikimybę. Klinikiniai tyrimai įrodė, jog bedakvilinas yra perspektyvus vaistas, todėl, atlikdami šią analizę, norime įsitikinti bedakvilino teikiama nauda ir veiksmingumu gydant daugeliui vaistų atsparią TB (DVA TB). **Tikslas.** Įvertinti gydymo bedakvilinu veiksmingumą, gydant DVA TB, išskiriant ypač daugeliui vaistų atsparios TB atvejus (YVA TB). **Tyrimo metodai.** Atlikta retrospektyvioji ligonių, sirgusių DVA TB, lyginamoji analizė, siekiant išsiaiškinti gydymo veiksmingumą į gydymo schemas įtraukus bedakviliną. Analizuotos dvi pacientų kategorijos: sirgusiųjų DVA TB ir gydytų bedakvilinu ir sirgusiųjų DVA TB, bet negydytų bedakvilinu. **Rezultatai.** Į analizę buvo įtraukti 2016–2018 m. užregistruoti DVA TB pradėto gydymo atvejai. Naudoti Tuberkuliozės valstybės informacinės sistemos duomenys, o pacientų gydymo rezultatai vertinti po 24–36 mėnesių nuo gydymo pradžios. Analizė atlikta vadovaujantis standartiniais gydymo rezultatų apibrėžimais pagal PSO ir Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro rekomendacijas. Analizuoti 663 DVA TB pacientai, iš jų 203 buvo diagnozuota YVA TB. Bedakvilinu buvo

Moksliniai darbai ir apžvalgos

gydyti 109 DVA TB sergantys asmenys, iš jų 55 YVA TB atvejai. 99,5 proc. atvejų buvo diagnozuota plaučių TB (n=660). Didžioji dalis tiriamųjų buvo vyrai (n=528) (79,6 proc.), moterys sudarė 20,4 proc. (n=135). Vidutinis tiriamųjų amžius buvo 46 metai. 25 proc. tiriamųjų (n=166) skreplių mikroskopija buvo neigiama. Abiejų tiriamųjų grupių gydymo rezultatų duomenys pateikti lentelėje. Žymūs skirtumai nustatyti vertinant sėkmingo išgydymo ir mirusiųjų duomenis. **Išvados.** Apibendrinus galima teigti, kad bedakvilino įtraukimas į gydymo schemą padeda pasiekti geresnių gydymo rezultatų. Retrospektyviosios analizės metu buvo nustatyta, jog bedakvilino įtraukimas į kompleksinio gydymo režimą, gydant DVA TB, daugiau nei 12 proc. pagerino sėkmingo išgydymo rodiklį, sumažino mirties atvejų skaičių bei padidino ligonių su pasėlio kultūros konversija skaičių (ypač YVA TB ligonių grupėje).

Lentelė. Tiriamųjų, sirgusių DVA TB ir gydytų bedakvilinu bei sirgusiųjų DVA TB, bet negydytų bedakvilinu, gydymo rezultatai

Rodmenys	Bedakvilinas įtrauktas į DVA TB pacientų gydymo schemą (n=109)			Bedakvilinas neįtrauktas į DVA TB pacientų gydymo schemą (n=554)		
	DVA TB, išskyrus YVA TB (n=54)	YVA TB (n=55)	Iš viso (n=109)	DVA TB, išskyrus YVA TB (n=406)	YVA TB (n=148)	Iš viso (n=554)
Sėkmingas gydymas, n (proc.)	43 (79,6)	28 (50,9)	71 (65,1)	239 (58,9)	56 (37,8)	295 (53,2)
Gydymą nutraukė, n (proc.)	8 (14,8)	11 (20)	19 (17,4)	68 (16,7)	28 (18,9)	96 (17,3)
Mirė, n (proc.)	2 (3,7)	7 (12,7)	9 (8,2)	78 (19,2)	38 (25,7)	116 (20,9)
Gydymas nesėkmingas, n (proc.)	1 (1,9)	7 (12,7)	8 (7,3)	14 (3,4)	22 (14,9)	36 (6,5)
Išvyko, n (proc.)	–	1 (1,8)	1 (0,9)	3 (0,7)	2 (1,3)	5 (0,9)
Tęsia gydymą, n (proc.)	–	1 (1,8)	1 (0,9)	4 (1)	2 (1,3)	6 (1,1)

Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio imunoterapija

THE ROLE OF IMMUNOTHERAPY IN SMALL CELL LUNG CANCER

SKAIDRIUS MILIAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Per pastaruosius dešimtmečius atlikta daug tyrimų, ieškant naujų diagnostikos ir ypač gydymo galimybių, tačiau smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio (SLPV) prognozė išlieka bloga. SLPV – tai labai imunogeniškas navikas su aukštu somatinių mutacijų skaičiumi, potencialiai išskiriamų dideliu neoantigenų kiekiu, nuslopintu imuniniu atsaku, paraneoplastiniais sutrikimais. Imunoterapija, skiriant imuninės sistemos kontrolės taško inhibitorius, daug žadantis SLPV gydymo metodas. Šiuo metu patvirtinta, kad papildomas imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitorių skyrimas (skiriant antikūnus prieš programuotos ląstelių žūties baltymo ligandą 1 (PD-L1) atezolizumabą arba durvalumabą) kartu su pirmos eilės chemoterapija platinos pagrindu reikšmingai prailgina bendrąjį išgyvenamumą bei išgyvenamumą be ligos progreso, neblogėjant saugumo profiliui.

Reikšminiai žodžiai: smulkiųjų ląstelių plaučių vėžys, imunoterapija, atezolizumabas, durvalumabas.

Summary. Despite permanent scientific activity and research, limited progress has been made in more than two decades in the treatment of small-cell lung cancer (SCLC). The prognosis of SCLC remains poor. SCLC is a very immunogenic tumor with high somatic mutation numbers, immunosuppressive status. According to the recently published clinical trials, two immune-checkpoint inhibitors – atezolizumab and durvalumab, significantly prolong overall survival in this disease without additional safety concerns.

Keywords: small-cell lung cancer, immunotherapy, atezolizumab, durvalumab.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.714>

Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžys (SLPV) sudaro apie 15 proc. visų plaučių vėžio atvejų [1]. SLPV ypač susijęs su tabako rūkymu. Diagnozės nustatymo metu apie 30 proc. SLPV atvejų priskiriami neišplitusiai ligos formai (angl. *limited disease*, dar vadinama lokalizuota), kai vėžys apima vieną krūtinės ląstos pusę, tos pačios pusės tarpuplautį arba viršraktikaulinius limfmazgius. Manoma, kad tokie navikiniai pažeidimai gali būti apimami vienu spindulinio gydymo lauku, todėl galimas chemospindulinis arba, nesant galimybės skirti chemoterapiją, vien tik spindulinis gydymas [2–4]. Likę SLPV atvejai priskiriami išplitusiai ligos formai (angl. *extensive disease*, dar vadinama metastazavusia).

Žinoma, kad, lyginant su kitais plaučių vėžio tipais, SLPV yra ypač jautrus chemoterapijai ir spinduliniam gydymui. Tačiau pasiekti gerų gydymo rezultatų ir pilno pasveikimo yra labai sunku, nes SLPV greitai plinta, metastazuoja į kitus organus. Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) duomenimis, sergamumas ir mirtingumas nuo SLPV pastaraisiais dešimtmečiais mažėja [5]. Apskaičiuota, kad 2021 m. JAV plaučių vėžiu sirgs 235 760 gyventojų, o mirs – 131 880 [6]. Vyresnis amžius – svarbus daugelių vėžinių ligų rizikos veiksnys. Dažniausiai SLPV serga 65–84 metų amžiaus žmonės [7]. Kiti SLPV rizikos veiksniai: tabako rūkymas (buvęs arba esamas), pasyvus rūkymas, aplinkoje esančių asbesto, arseno, chromo, berilio, nikelio povei-

kis, radiacija (krūties arba krūtinės organų spindulinis gydymas, radono poveikis namuose ar darbo vietoje, vaizdinių medicinos metodų, tokių kaip kompiuterinė tomografija naudojimas, apšvita branduolinės katastrofos arba atominės bombos sprogo metu), užterštas oras, šeiminė plaučių vėžio anamnezė, žmogaus imunodeficitu viruso infekcija, užkietėjusių rūkorių vartojami betakarotino papildai [8].

SLPV gali būti nustatomas atsitiktinai (radus pokyčių krūtinės ląstos radiologinių tyrimų metu) arba išryškėjus atitinkamiems simptomams. Simptomai ir kiti klinikiniai požymiai priklauso nuo: 1) pirminio darinio vietos ir vietinio jo plitimo; 2) greta esančių krūtinės ląstos struktūrų suspaudimo arba peraugimo; 3) tolimųjų metastazių; 4) paraneoplastinių sindromų. Dažniausiai nuo pat pradžių liga pasireiškia ryškėjančiu kosuliu, oro stygiumi, dusuliu. Kiti požymiai: krūtinės skausmas, balso užkimimas, silpnumas, apetito nebuvimas, svorio kritimas, atkosėjimas su krauju. Jeigu spaudžiama arba peraugama stemplė, atsiranda disfagija, jei pažeidžiamas grįžtamasis gerklų nervas – balso užkimimas, jei viršutinė tuščioji vena – veido patinimas ir kaklo bei veido venų paryškėjimas. Tolimosios centrinės nervų sistemos metastazės pasireiškia insulto požymiais arba asmenybės pokyčiais. Jeigu pažeidžiami kaulai, būna išreikštas skausminis sindromas.

Kartais SLPV gali prasidėti paraneoplastinių sind-

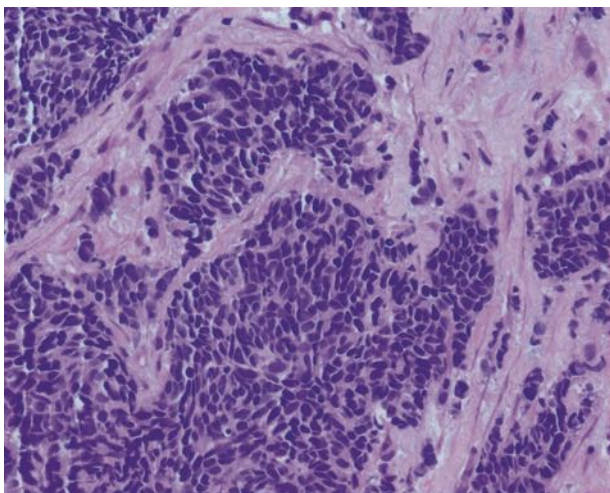
romų simptomais ir požymiais. Būdingi sindromai: 1) neadekvati antidiuretinio hormono sekrecija; 2) Kušingo sindromas; 3) paraneoplastinė smegenėlių degeneracija; 4) Lambert–Eaton miasteninis sindromas.

Nepriklausomai nuo ligos stadijos, SLPV prognozė yra bloga, nors per pastaruosius 25 metus žymiai pagerėjo diagnostikos ir gydymo galimybės. Neskiriant gydymo, SLPV pasižymi agresyviausia klinicine eiga iš visų plaučių vėžio tipų, esant išgyvenamumo medianai tik 2–4 mėn. Apie 10 proc. SLPV atvejų, pradėjus gydymą, dvejus metus liga neatsinaujina. Tai laikotarpis, kai įprastoje klinikinėje praktikoje dažniausiai stebimas ligos progresavimas. Penkerius metus išgyvena 5–10 proc. susirgusiųjų [9–11]. Labai svarbu ir ligos išplitimas. Jei liga neišplitusi, prognozė yra žymiai geresnė. Tuomet vidutinis išgyvenamumas siekia 16–24 mėn., o penkerius metus, esant dabartinėms gydymo galimybėms, išgyvena 14 proc. sergančiųjų. Sergančiuosius neišplitusia SLPV ligos forma, prieš pradėdant gydymą, būtina visais įmanomais būdais skatinti mesti rūkyti, nes rūkymas blogina išgyvenamumą.

Morfologiniu požiūriu SLPV – tai didelio piktybiškumo neuroendokrininis navikas (1 pav.). Neuroendokrininės diferenciacijos žymenys randami apytiksliai 76–80 proc. SLPV atvejų [12]. SLPV taip pat gali atsirasti dėl endotelio augimo veiksnio receptoriaus (angl. *endothelial growth factor receptor*, EGFR) mutacijos sąlygotos plaučių adenocarcinomos histologinės transformacijos [13]. Apie 3–10 proc. nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio atvejų, sukeltų EGFR mutacijos, transformuojasi į SLPV [14].

SMULKIŲJŲ LĄSTELIŲ PLAUCIŲ VĖŽIO GYDYMAS

Per pastaruosius 30 metų didelio progreso gydant SLPV nepasiekta. Susirgus pačioje pradžioje SLPV yra



1 pav. Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžys

Matyti ląstelių polimorfizmas, santykinai labai stambūs, chromatingi branduoliai ir negausi citoplazma.

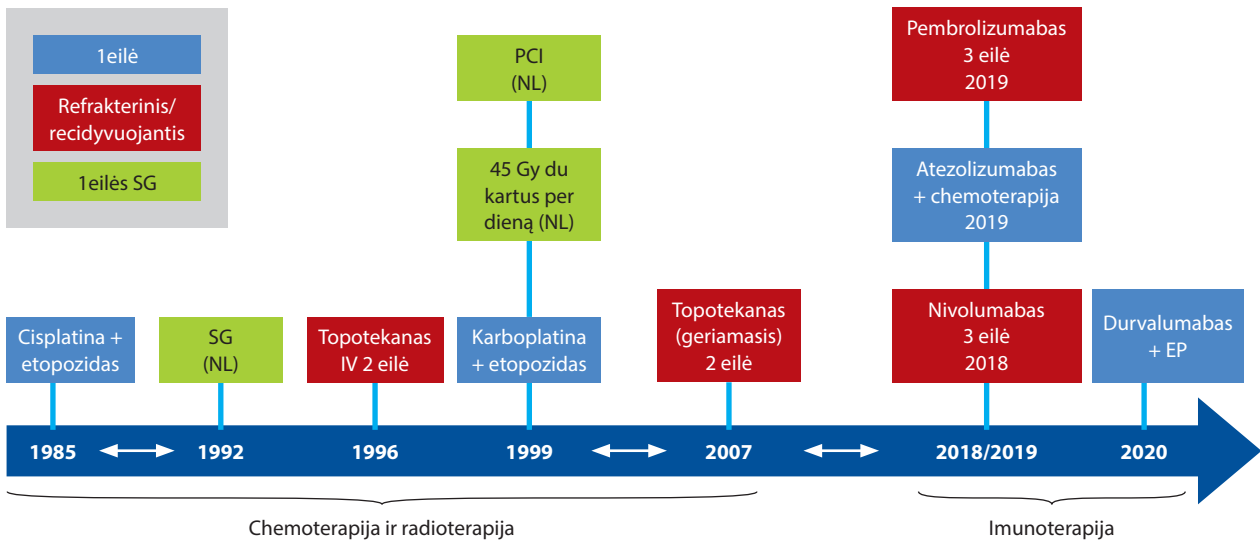
labai jautrus chemoterapijai [15]. Nuo 1985 m. cisplatinos ir etopozido derinys išlieka pirmos eilės gydymo standartu sergantiesiems SLPV. Atsako dažnis, skyrus chemoterapiją platinos pagrindu, siekia 70–90 proc., esant neišplitusiai ligos formai, 50–60 proc. – išplitusiai [15]. Vis dėl to apie 80 proc. SLPV neišplitusios ligos formos ir beveik 100 proc. išplitusios formos atvejų, greitai progresuoja ir išgyvenamumas be ligos progreso siekia 4–6 mėn. [16]. Dėl didelio mirštamumo antros eilės gydymą gauna 30–50 proc., o trečios eilės – apie 20 proc. pacientų [17, 18]. Šiuo metu nėra patvirtinto trečios eilės SLPV gydymo standarto.

Naujuosius vaistus galima skirstyti į penkias grupes, atsižvelgiant į poveikio vietą ir mechanizmą: 1) slopinamieji PARP1 (fermentą, atliekantį DNR atstatymą): olaparibas, beliparibas, talazoparibas; 2) surišantieji vėžinės ląstelės paviršiaus baltymą DLL3 (atsakingą už ląstelių vystymosi reguliavimą): rovalpitudumabo tezirinas; 3) slopinantieji EZH2 (epigenetika): tazometostatas, CPI-1205, GSK-126, DS-3201; 4) slopinantieji WEE1, Aurora kinazę A, RNR polimerazę, CDK 4/6 (ląstelės ciklas) – AZD1774: alisertibas, lurbinektidinas, tirlacilibas; 5) imuninių patikros taškų slopintojai: anti PD-1/PDL-1, CTLA-4 [19]. Pastarosios grupės keturi vaistai jau keletą metų plačiai taikomi nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio (NLPV) gydymui. Imunoterapija – tai naujas ir veiksmingas sisteminis plaučių vėžio gydymo metodas, pagrįstas imuninės sistemos ląstelių aktyvinimu, kad šios gebėtų atpažinti ir sunaikinti navikines ląsteles. Atrasti imuninės sistemos kontrolės taškai (angl. *immune check points*), tokie kaip citotoksinis T limfocitų baltymas 4 (angl. *cytotoxic T-lymphocyte protein 4*, CTLA4), programuotos ląstelės žūties baltymas 1 (angl. *programmed cell death protein 1*, PD-1), programuotos ląstelės žūties baltymo ligandas 1 (angl. *programmed cell death ligand 1*, PDL1) lėmė tikrą proveržį onkologinių ligų gydyme, o jų atradėjai J. P. Allison ir T. Honju 2018 m. buvo įvertinti Nobelio premija. Gydymas imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitoriais yra gerai toleruojamas. Vienas iš predikcinių sergančiųjų NSLPV veiksmių yra PD-L1. Sergančiųjų NSLPV navikiniame audinyje PD-L1 raiškos nustatymas yra svarbus kriterijus, tikintis teigiamo atsako į gydymą imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitoriais, o šių receptorių raiškos intensyvumas imunohistocheminėse reakcijose yra susijęs su atsaku į imunoterapiją [20, 21].

Imunoterapijos taikymas SLPV gydymui žymi naują kovos su šia grėsminga liga etapą (2 pav.). Yra įvairių imunoterapijos metodų, kurie bandyti SLPV gydymui: imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitoriai, priešvėžinės vakcinos, citokinai. Šiame straipsnyje apžvelgiami šiuo metu klinikinėje praktikoje patvirtinti vartoti imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitoriai.

Publikuoti tyrimų duomenys leidžia teigti, kad

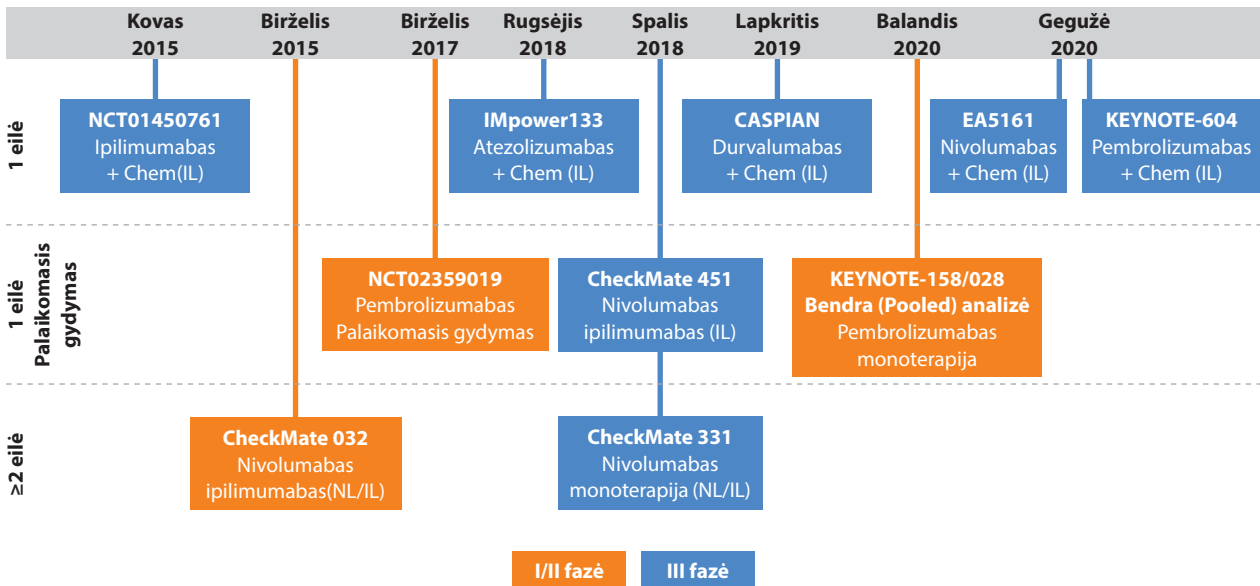
Farmakoterapija



2 pav. Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio gydymo galimybių pokytis

JAV Maisto ir vaistų administracijos aprobuoti vaistai.

EP – etopozidas ir platinos vaistai; IL – išplitusi liga; IV – intraveninis; NL – neišplitusi liga; PCI – profilaktinis centrinės nervų sistemos apšvitinimas; SG – spindulinis gydymas.



3 pav. Pagrindiniai imunoterapijos, skirtos smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio gydymui, klinikinių tyrimų duomenys

NL - neišplitusi liga; IL – išplitusi liga.

Imunoterapija gali būti naudinga SLPV gydymui [22]. Nustatyta, kad, esant neišplitusiai SLPV formai, naviko audinyje yra žymiai didesnis CD4+ T ląstelių skaičius, taip pat daugiau interleukiną 17 (IL-17) gaminančių ląstelių (Th17) [23]. Didesnė PDL-1 raiška siejama su geresniu išgyvenamumu [24]. SLPV yra vienas iš navikų, kuriam būdingas didžiausias somatinių mutacijų skaičius [25], įskaitant ir mutacijas, atsakingas už DNR pažaidų kontrolę [26]. Navikai, turintys didesnę somatinių mutacijų skaičių, išskiria daugiau specifinių vėžio neoantigenų, kurie sukelia imuninį atsaką. Nesant adekvačių DNR pažaidų ištaisymo mechanizmų, atsiranda dauginės genų mutacijos – mikrosatelitų nestabilumas (angl. *microsatellite instability*, MSI). MSI

siejamas su geresniu atsaku į gydymą skiriant PD-1 inhibitorius [27]. Su geresniu atsaku taip pat siejamas ir didesnis darinio somatinių mutacijų skaičius (angl. *tumor mutational burden*, TMB) esant įvairiems navikų tipams [28]. Reikia pabrėžti, kad, nepaisant didelio TMB, SLPV būdinga ypač ryški vietiškai pasireiškianti imunosupresija.

Imunoterapija turėtų būti naudinga skiriant ją kartu su chemoterapija SLPV gydymui: 1) chemoterapijos sąlygota vėžio ląstelių žūtis sąlygoja gausų vėžio antigeno išsiskyrimą ir jų kontaktą su imunine sistema; 2) didelė PD-L1 raiška sąlygoja imuninių ląstelių invaziją ir T ląstelių slopinimą; 3) PD-1/PD-L1 inhibicija atstato T ląstelių imuninį atsaką; 4) imunosupresijos panai-

kinimas užtikrina ilgalaikį ir gilų imuninį atsaką. 3 pav. pateikiami pagrindiniai imunoterapijos, skiriant imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitorius, klinikinių tyrimų duomenys.

1 lentelėje pateikiami atliktų klinikinių tyrimų, skirtų antros ir trečios eilės imunoterapijos SLPV gydymui, duomenys (29, 30). Remiantis klinikinių tyrimų duomenimis, JAV Maisto ir vaistų administracija (angl. *Food and Drug Administration*, FDA) patvirtino pembrolizumabą (anti-PD1 humanizuotą IgG4 antikūną) ir nivolumabą (žmogaus anti-PD1 IgG4 monokloninį antikūną) trečios eilės SLPV gydymui monoterapija prieš tai imuno-

terapija negydytiems pacientams. Europos Vaistų agentūra (angl. *European Medicines Agency*, EMA) šių indikacijų nepatvirtino. 2 lentelėje pateikiami pirmos eilės imunoterapijos su chemoterapija SLPV gydymui klinikinių tyrimų duomenys [31–33]. Tarpusavyje imunoterapijos vaistai nelyginti. Remiantis žemiau pateikiamų klinikinių tyrimų duomenimis, šiuo metu manoma, kad nei PD-L1 raiška, nei kitas biožymuo, pvz., darinio mutacijų skaičius, negali būti predikciniu išgyvenamumo veiksniumi skiriant išplitusio SLPV pirmos eilės gydymui chemoterapiją ir imunoterapiją.

Atezolizumabas – tai humanizuotas monokloninis imunoglobulino G1 antikūnas prieš PD-L1. Jis atkuria T ląstelių priešvėžinį imuninį atsaką, jungdamasis su PD-L1 ir blokuodamas jo sąveiką su PD-1 bei B7.1 receptoriais. Tai pirmasis PD-L1 inhibitorius, patvirtintas išplitusiu SLPV sergančių pacientų pirmos eilės gydymui derinyje su karboplatina ir etopozidu. IMpower133 (NCT02763579) – tai III fazės, atsitiktinių imčių, dvigubai aklas, placebo kontroliuojamas klinikinis tyrimas. Jame dalyvavo 403 pacientai, kuriems diagnozuotas anksčiau negydytas SLPV. 4 pav. pateikiamas šio tyrimo dizainas. Nustatyta, kad atezolizumabo ir chemoterapijos derinys reikšmingai prailgina išgyvenamumą, palyginus vien su chemote-

1 lentelė. Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio antros ir trečios eilės gydymo imunoterapija klinikinių tyrimų duomenys.

Tyrimas	Vaistas	Gydymo režimas	Eilė	Bendro atsako dažnis, proc.
CheckMate032 (1/2 fazė)	Nivolumabas ± ipilumabas	3 mg/kg nivolumabo	2+	10 (5–18)
		3 mg/kg nivolumabo su 1 mg/kg ipilimumabo		19 (9–31)
		3 mg/kg nivolumabo su 1 mg/kg ipilimumabo		23 (13–36)
KEYNOTE-028/KEYNOTE-158 (1/2 fazė)	Pembrolizumabas	Monoterapija	3+	19,3 (11,4–29,4)
Tyrimas 1198 (išplėstinė kohorta)	Durvalumabas	Monoterapija	2+	9,5 (1,2–30,4)

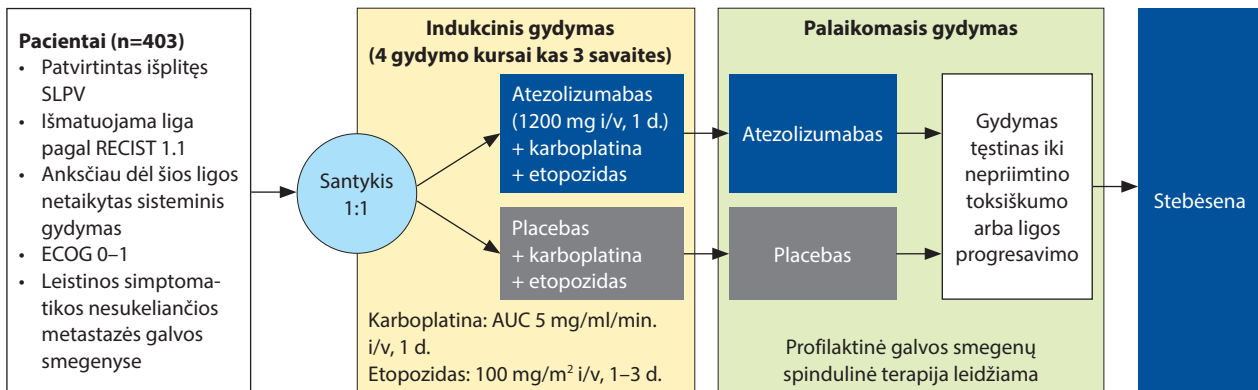
rapijos skyrimu (bendrojo išgyvenamumo mediana – 12,3 mėn., palyginus su 10,3 mėn.; rizikos santykis (RS) 0,70; 95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 0,54–0,91, p=0,007). Atezolizumabo ir chemoterapijos grupėje vienerių metų bendrasis išgyvenamumas buvo apie 13 proc. didesnis nei placebo ir chemoterapijos grupėje (51,7 proc., palyginus su 38,2 proc.). Atezolizumabo ir chemoterapijos derinys statistiškai reikšmingai sumažino ligos progresavimo arba mirties riziką, palyginus vien su chemoterapija (išgyvenamumo be ligos progresavimo mediana – 5,2 mėn., palyginus su 4,3 mėn.; RS=0,77; 95 proc. PI 0,62–0,96, p=0,02). Atezolizumabo ir chemoterapijos deriniu gydytų pacientų grupėje nustatyti reikšmingai geresni bendrojo išgyvenamumo ir išgyvenamumo be ligos progresavimo rezultatai nei grupėje, kur buvo gydyta tik chemoterapija, nepriklausomai nuo paciento lyties, amžiaus, funkcinės būklės, metastazių galvos smegenyse. Su gydymu susijęs nepageidaujamas poveikis pasireiškė 188 atezolizumabo ir chemoterapijos grupės pacientams (94,9 proc.) bei 181 placebo ir chemoterapijos grupės pacientui (92,3 proc.). 3 ir 4 laipsnio su gydymu susijusių nepageidaujamų poveikių nustatyta 56,6 proc. pacientų, vartojusių atezolizumabo ir chemoterapijos derinį, palyginus su 56,1 proc. pacientų, gydytų chemo-

2 lentelė. Smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio pirmos eilės gydymo, derinant chemoterapiją ir imunoterapiją, klinikinių tyrimų duomenys

Tyrimas	Gydymas	Išgyvenamumas be ligos progreso/ bendrasis išgyvenamumas (vidurkis mėnesiais)	Bendro išgyvenamumo RS / ar statistiškai reikšminga	Išgyvenamumo be ligos progresavimo RS
IMpower 133	Atezolizumabas + karboplatina + etopozidas	5,2/12,3	0,76 (0,60–0,95)	0,77 (0,63–0,95)
	Placebas + karboplatina + etopozidas	4,3/10,3	Taip	
Caspian	Durvalumabas + platina + etopozidas	5,1/12,9	0,75 (0,62–0,91)	0,80 (0,66–0,96)
	Platina + etopozidas	5,4/10,5	Taip	
KEYNOTE-604	Pembrolizumabas + platina + etopozidas	4,5/10,8	0,80 (0,64–0,98)	0,75 (0,61–0,91)
	Placebas + platina + etopozidas	4,3/9,7	Ne	

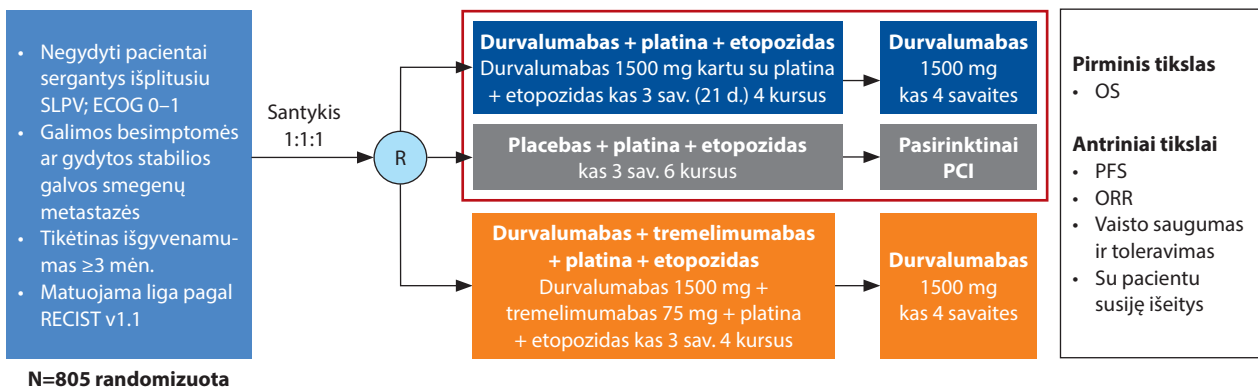
RS– rizikos santykis (angl. *hazard ratio*).

Farmakoterapija



4 pav. Klinikinio tyrimo IMpower133 dizainas

AUC – plotas po kreive.



5 pav. Klinikinio tyrimo CASPIAN dizainas

ECOG – paciento funkcinės būklės vertinimo skalė; ORR – bendras atsako dažnis; OS – bendras išgyvenamumas; PCI – profilaktinis centrinės nervų sistemos apšvitinimas; PFS – išgyvenamumas be ligos progresavimo; SLPV – smulkiųjų ląstelių plaučių vėžys.

terapija su placebo. Dažniausi stebėti 3–4 laipsnio su gydymu susiję nepageidaujami poveikiai: neutropenija, anemija. Atezolizumabo ir chemoterapijos grupėje nustatyti trys (1,5 proc.) su gydymu susiję mirties atvejai (1 mirties atvejis sąlygotas neutropenijos, 1 – pneumonijos, 1 – nepatikslingos priežasties), placebo ir chemoterapijos grupėje nustatyti 3 (1,5 proc.) su gydymu susiję mirties atvejai (1 paciento mirtį sąlygojo pneumonija, 1 – sepsinis šokas, 1 – kardiopulmoninis nepakanamumas) [34].

Durvalumabas – tai selektyvus, monokloninis žmogaus IgG1 antikūnas prieš PD-L1. Caspian (NCT03043872) – tai atviras (angl. *open label*) III fazės daugiacentris klinikinis tyrimas, kuriame dalyvavo SLPV sergantys ir dar negydyti asmenys (5 pav.) [35]. Pacientai atsitiktine tvarka buvo priskirti vienai iš trijų šakų (santykiu 1:1:1), kur gydymui skirta: 1) durvalumabas, platinos vaistas su etopozidu; 2) durvalumabas su tremelimumabu, platinos vaistas su etopozidu; 3) tik platinos vaistas su etopozidu. Į pirmą grupę pateko 268, į antrą – 268, o į trečią – 269 pacientai. Tyrejų nuožiūra buvo galima rinktis cisplatiną arba karboplatiną.

Atnaujintais duomenimis [36], durvalumabo, platinos ir etopozido grupėje nustatytas statistiškai

reikšmingai prailgėjęs bendrasis išgyvenamumas, RS buvo 0,75 (95 proc. PI 0,62–0,91, p=0,0032); o bendrojo išgyvenamumo mediana siekė 12,9 mėn. (95 proc. PI 11,3–14,7), lyginant su platinos ir etopozido grupe, kurioje vidutinis išgyvenamumas buvo 10,3 mėn. Atitinkamai šiose grupėse po 12 mėn. išgyveno 52,8 proc. ir 39,3 proc., po 18 mėn. – 32 proc. ir 24,8 proc., po 24 mėn. – 22,2 ir 14,4 proc. pacientų. Bet kurio laipsnio nepageidaujami poveikiai nustatyti 260 (98 proc.) iš 265 pacientų, gydytų durvalumabu, platinos ir etopozidu, 258 (97 proc.) iš 266 pacientų, gydytų platinos ir etopozidu. Dažniausias 3 ir didesnio laipsnio nepageidaujamas poveikis buvo neutropenija – 64 (24 proc.) durvalumabo, platinos ir etopozido grupėje, 88 (33 proc.) – platinos ir etopozido grupėje, ir anemija – atitinkamai 24 (9 proc.) ir 48 (18 proc.) atvejai. Mirtis nuo bet kokių priežasčių buvo konstatuota 13 (5 proc.) pirmos grupės pacientų (šeši atvejai sieti su gydymu: širdies sustojimas, dehidracija, hepatotoksiškumas, intersticinė plaučių liga, pancitopenija, sepsis); 15 (6 proc.) pastarosios grupės (du atvejai sieti su gydymu: pancitopenija vienu atveju, trombocitopenija ir kraujavimas – kitu).

IŠVADOS

Daugiau kaip po trijų dešimtmečių išplitusio SLPV gydymui pavirtinti nauji vaistai. Papildomas imunoterapijos (imuninės sistemos kontrolės taškų inhibitorių – antikūnų prieš programuotos ląstelių žūtis baltymo ligandą 1 (PD-L1)) skyrimas kartu su pirmos eilės chemoterapija platinos pagrindu reikšmingai prailgina bendrąjį išgyvenamumą. Tai yra naujas išplitusio SLPV gydymo standartas. IMpower133 tyrimo metu patvirtinta, kad papildomas atezolizumabo prie karboplatinės ir etopozido skyrimas reikšmingai prailgina bendrąjį išgyvenamumą bei išgyvenamumą be ligos progreso, lyginant su gydymu, kai skiriama tik karboplatina su etopozidu. Atezolizumabo ir chemoterapijos derinio saugumo profilis buvo panašus į atezolizumabo ir atskirai vartojamų vaistų žinomas saugos savybes.

Caspian tyrimo metu patvirtinta, kad papildomas durvalumabo prie cisplatinės arba karboplatinės su etopozidu skyrimas reikšmingai prailgina bendrąjį išgyvenamumą, lyginant su gydymu, skiriant tik platinos vaistą su etopozidu. Durvalumabo ir chemoterapijos derinio saugumo profilis buvo panašus į durvalumabo ir atskirų vartojamų vaistų žinomas saugos savybes.

Šiuo metu manoma, kad nei PD-L1 raiška, nei kitas biožymuo, pvz., darinio mutacijų skaičius, negali būti predikciniu išgyvenamumo veiksmu, skiriant išplitusio smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio pirmos eilės gydymui chemoterapiją (platina ir etopozidu) ir imunoterapiją (atezolizumabu arba durvalumabu).

LITERATŪRA

1. **Bender E.** Epidemiology: The dominant malignancy. *Nature*. 2014;513 (7517):S2–S3.
2. **Rudin CM, Ismaila N, Hann CL, Malhotra N, Movsas B, Norris K, et al.** Treatment of small-cell lung cancer: American society of clinical oncology endorsement of the American college of chest physicians guideline. *J Clin Oncol*. 2015;33(34):4106–11.
3. **Artal Cortés Á, Dómine Gómez M, Font Pous A, García Campelo R, Cobo Dolls M, Isla Casado D.** SEOM clinical guidelines for the treatment of small-cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*. 2010;12(1):27–31.
4. **Früh M, De Ruyscher D, Popat S, Crinò L, Peters S, Felip E, et al.** Small-cell lung cancer (SCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013;24:99–105.
5. **Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, et al.** Changing epidemiology of small-cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (28): 4539–44.
6. **Cancer Facts and Figures 2021.** American Cancer Society. Internetinė prieiga: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2021/cancer-facts-and-figures-2021.pdf>.
7. **Howlander N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds).** SEER Cancer Statistics Review, 1975–2016, National Cancer Institute. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/, based on November 2018 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2019.
8. **National Cancer Institute.** Small Cell Lung Cancer Treatment (PDQ*) – Health Professional Version. Available at: <https://www.cancer.gov/types/lung/hp/small-cell-lung-treatment-pdq>.
9. **Johnson BE, Grayson J, Makuch RW, Linnoila RI, Anderson MJ, Cohen MH, et al.** Ten-year survival of patients with small-cell lung cancer treated with combination chemotherapy with or without irradiation. *J Clin Oncol*. 1990;8(3):396–401.
10. **Fry WA, Menck HR, Winchester DP.** The National Cancer Data Base report on lung cancer. *Cancer*. 1996;77(9):1947–55.
11. **Lassen U, Osterlind K, Hansen M, Dombernowsky P, Bergman B, Hansen HH.** Long-term survival in small-cell lung cancer: posttreatment characteristics in patients surviving 5 to 18+ years an analysis of 1,714 consecutive patients. *J Clin Oncol*. 1995;13(5):1215–20.
12. **Guinee DG Jr, Fishback NF, Koss MN, Abbondanzo SL, Travis WD.** The spectrum of immunohistochemical staining of small-cell lung carcinoma in specimens from transbronchial and open-lung biopsies. *Am J Clin Pathol*. 1994;102(4):406–14.
13. **Oser MG, Niederst MJ, Sequist LV, Engelman JA.** Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin. *Lancet Oncol*. 2015;16:e165–72.
14. **Marcoux N, Gettinger SN, O’Kane G, Arbour KC, Neal JW, Husain H, et al.** EGFR-Mutant Adenocarcinomas That Transform to Small-cell Lung Cancer and Other Neuroendocrine Carcinomas: Clinical Outcomes. *J Clin Oncol*. 2019;37(4):278–85.
15. **Hurwitz JL, McCoy F, Scullin P, Fennell DA.** New advances in the second-line treatment of small cell lung cancer. *Oncologist*. 2009;14:986–94.
16. **Farago AE, Keane FK.** Current standards for clinical management of small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2018;7:69–79.
17. **Jong WK, Hacken NHT, Groen HMN.** Third-line therapy for small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2006;52(3):339–42.
18. **Aktas G, Kus T, Kalender ME, Sevinc A, Camci C, Kul S.** Survival analysis in second-line and third-line chemotherapy with irinotecan followed by topotecan or topotecan followed by irinotecan for extensive-stage small-cell lung cancer patients: a single-center retrospective study. *Onco Targets Ther*. 2016;9:1921–6.
19. **Sabari JK, Lok BH, Laird JH, Poirier JT, Rudin CM.** Unraveling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017; 14(9):549–61.
20. **Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al.** Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016; 375(19):1823–33.
21. **Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al.** Updated analysis of KEYNOTE-024: pembrolizumab versus platinum-based chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer with PD-L1 tumor proportion score of 50% or greater. *J Clin Oncol*. 2019; 37(7):537–46.
22. **Calles A, Aguado G, Sandoval C, Álvarez R.** The role of immunotherapy in small cell lung cancer. *Clinical and Translational Oncology*. 2019;21:961–76.
23. **Koyama K, Kagamu H, Miura S, Hiura T, Miyabayashi T, Itoh R, et al.** Reciprocal CD41 T-cell balance of effector CD62L-low CD41 and CD62LhighCD251 CD41 regulatory T cells in small cell lung cancer reflects disease stage. *Clin Cancer Res*. 2008;14(21):6770–9.
24. **Ishii H, Azuma K, Kawahara A, Yamada K, Imamura Y, Tokito T, et al.** Significance of programmed cell death-ligand 1 expression and its association with survival in patients with small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;10(3):426–30.
25. **Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sós ML, George J, Seidel D, Kasper LH, et al.** Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nat Genet*. 2012;44:1104.
26. **Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD.** Small-cell lung cancer: what we know, what we need to know and the path forward. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:725.
27. **Dudley JC, Lin MT, Le DT, Eshleman JR.** Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res*. 2016;22(4):813–20.
28. **Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, Patel SP, Frampton GM, Miller V, et al.** Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(11):2598–608.

Farmakoterapija

29. **Antonia S, Goldber SB, Balmanoukian A et al.** Safety and antitumour activity of durvalumab plus tremelimumab in non-small cell lung cancer: a multicentre, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2016; 17:883–95.
30. **Chung HC, Piha-Paul SA, Lopez-Martin J et al.** Pembrolizumab After Two or More Lines of Previous Therapy in Patients With Recurrent or Metastatic SCLC: Results From the KEYNOTE-028 and KEYNOTE-158 Studies. *J Thorac Oncol.* 2020; 15: 618–27.
31. **Liu SV, Reck M, Mansfield AS, Mok T, Scherpereel A, Reinmuth N, Garassino MC, et al.** Updated Overall Survival and PD-L1 Subgroup Analysis of Patients With Extensive-Stage Small-cell Lung Cancer Treated With Atezolizumab, Carboplatin, and Etoposide (IMpower133). *J Clin Oncol.* 2021;39(6):619–30.
32. **Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al.** Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide alone in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): updated results from a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22(1):51–65.
33. **Rudin CM, Awad MM, Navarro A, Gottfried M, Peters S, Csósz T, et al.** Pembrolizumab or Placebo Plus Etoposide and Platinum as First-Line Therapy for Extensive-Stage Small-cell Lung Cancer: Randomized, Double-Blind, Phase III KEYNOTE-604 Study. *J Clin Oncol.* 2020;38(21):2369–79.
34. **Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, Havel L, Krzakowski M, Hochmair MJ, et al.** First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;379:2220–9.
35. **Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al.** Durvalumab plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial *Lancet.* 2019;394:1929–39.
36. **Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al.** Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide alone in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): updated results from a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22:51–65.

Trigubos terapijos, skirtos gydyti sergančiuosius lėtine obstrukcine plaučių liga, itin smulkių vaisto dalelių depozicijos plaučiuose tyrimas

AIRWAY DEPOSITION OF EXTRAFINE INHALED TRIPLE THERAPY IN PATIENTS WITH COPD STUDY

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Sergantiesiems lėtine obstrukcine plaučių liga (LOPL) yra nustatyta koreliacija tarp smulkiųjų kvėpavimo takų disfunkcijos ir blogesnių gydymo rezultatų. Todėl svarbu, kad įkvėpjamieji vaistai (tiek bronchus plečiantieji, tiek tie, kurie veikia prieš uždegimiškai) patektų į smulkiuosius kvėpavimo takus. LOPL palaikomajam gydymui šiuo metu yra patvirtinti du trigubos terapijos vaistai, visus tris komponentus talpinantys viename inhaliatoriuje. Tai yra itin smulkių dalelių beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas (BDP / FF / GB) ir ne itin smulkių dalelių flutikazono furoatas / vilanterolis / umeclidinas (FluF / VI / UMEC). Tyrime buvo įvertinta įkvėpamojo gliukokortikoido (IGK), ilgo veikimo β_2 agonisto (IVBA) ir ilgo veikimo muskarino receptorių antagonisto (IVMA) depozicija plaučiuose. Vertinimui naudotas funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas (angl. *functional respiratory imaging*, FRI), pasitelkiant kompiuterinę tomografiją ir skysčių dinamikos skaičiavimo techniką, kuriai svarbu aerolio pateikimo sergančiajam savybės, pakartotiniai didelės skiriamosios gebos kompiuterinės tomografijos tyrimai (DSGKT) ir tai, kaip pacientas sukvėpuoja vaistus. Visa tai sudaro sąlygas imituoti vaisto nusėdimą plaučiuose. Į analizę buvo įtraukti 20 LOPL sergančių pacientų, kuriems podilatacinis forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę (FEV_1) svyravo nuo 19,3 iki 66,0 proc., DSGKT tyrimų duomenys. Vertinant bendrą vaisto nusėdimą centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose procentine dalimi nuo įkvėptos vaisto dozės, nustatyta, kad IGK depozicija plaučiuose buvo didesnė skiriant BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC; vertinant IVBA ir IVMA depoziciją, tiek skiriant vieną, tiek kitą trigubą terapiją, rezultatai buvo panašūs. Visų trijų komponentų depozicija periferiniuose kvėpavimo takuose buvo didesnė skiriant BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC. Be to, visų trijų BDP / FF / GB komponentų depozicijos bendrai centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose santykiai buvo <1 , o tai rodo didesnę depoziciją periferiniuose nei centriniuose apatiniuose kvėpavimo takuose. Taigi, visų trijų komponentų (IGK, IVBA ir IVMA) depozicija periferiniuose (smulkiuosiuose) kvėpavimo takuose buvo didesnė skiriant BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC (vertinta naudojant funkcinį kvėpavimo takų vaizdavimą, pagrįstą pacientų, sergančių vidutinio sunkumo arba labai sunkia LOPL, profiliais).

Reikšminiai žodžiai: didelės skiriamosios gebos kompiuterinės tomografijos tyrimas, funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas, suspausto oro dozuotas aerolinis inhaliatorius, sausų miltelių dozuotas inhaliatorius, įkvėpjamasis hormonas, ilgo veikimo β_2 agonistas, ilgo veikimo muskarino antagonistas.

Summary. There is a clear correlation between small airways dysfunction and poor clinical outcomes in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and it is therefore important that inhalation therapy (both bronchodilator and anti-inflammatory) can deposit in the small airways. Two single-inhaler triple therapy combinations are currently approved for the maintenance treatment of COPD: extrafine formulation beclomethasone dipropionate/formoterol fumarate/glycopyrronium bromide (BDP/FF/GB) and non-extrafine formulation fluticasone furoate/vilanterol/umeclidinium (FluF/VI/UMEC). This study evaluated the lung deposition of the inhaled corticosteroid (ICS), long-acting β_2 -agonist (LABA), and long-acting muscarinic antagonist (LAMA) components of these two single-inhaler triple therapies. Lung deposition was estimated in silico using functional respiratory imaging, a validated technique that uses aerosol delivery performance profiles, patients' high-resolution computed tomography (HRCT) lung scans and patient-derived inhalation profiles to simulate aerosol lung deposition. HRCT scan data from 20 patients with COPD were included in these analyses, who had post-bronchodilator forced expiratory volume in 1 second (FEV_1) ranging from 19.3% to 66.0% predicted. For intrathoracic deposition (as a percentage of the emitted dose), deposition of the ICS component was higher from BDP/FF/GB than FluF/VI/UMEC; the two triple therapies had a similar performance for both the LABA component and the LAMA component. Peripheral deposition of all three components was higher with BDP/FF/GB than FluF/VI/UMEC. Furthermore, the ratios of central to peripheral

deposition for all three components of BDP/FF/GB were <1, indicating greater peripheral than central deposition. Peripheral (small airways) deposition of all three components (ICS, LABA, and LAMA) was higher from BDP/FF/GB than from FluF/VI/UMEC, based on profiles from patients with moderate to very severe COPD.

Keywords: high-resolution computed tomography, functional respiratory imaging, pressurized metered dose inhaler, dry powder inhaler, inhaled corticosteroid, long-acting β_2 -agonist, long-acting muscarinic antagonist.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.715>

IVADAS

Smulkieji (arba periferiniai) kvėpavimo takai apibrėžiami kaip turintys <2 mm skersmenį. Būtent jie yra pagrindinė oro srauto apribojimo vieta sergant lėtine obstrukcine plaučių liga (LOPL), nepriklausomai nuo jos sunkumo [1, 2]. Bronchiolių kolapsas, sumažėjęs alveolių paviršiaus plotas jau randamas sergant ir lengva LOPL [2]. Deja, sutrikusios smulkiųjų kvėpavimo takų funkcijos kartais nepavyksta nustatyti vos jai atsiradus standartiškai atliekant spirometriją, o šis laikas vadinamas „tyliąja zona“ [3]. LOPL sergantiesiems nustatyta koreliacija tarp smulkiųjų kvėpavimo takų disfunkcijos ir spartesnio forsuito iškvėpimo tūrio per pirmą sekundę (angl. *forced expiratory volume in 1st second*, FEV₁) mažėjimo [4]. Be to, smulkiųjų kvėpavimo takų disfunkcija gali būti svarbu vystantis emfizemai, todėl smulkiųjų kvėpavimo takų gydymas gali sumažinti emfizemos progresavimą [1]. Taigi, didėjantys oro „spūštai“ yra susiję su trumpesniu atstumu, įveikiamu per 6 min. ėjimo testą, padažnėjusiais paūmėjimais, prastesne sveikatos būkle, varginančiu dusuliu [5]. Smulkiųjų kvėpavimo takų rezistentiškumas koreliuoja su blogėjančia LOPL sergančiojo sveikatos būkle [6]. Todėl, renkant LOPL gydymą, labai svarbu, kad per inhaliatorių įkvėpiant vaistą (tiek bronchus plečiantįjį, tiek tą, kuris veikia priešuždegimiškai) būtų sukuriamos smulkiosios vaisto dalelės, galinčios patekti į smulkiuosius kvėpavimo takus [7, 8].

Svarbiausias įkvėpiamojo vaisto patekimo į plaučius veiksnys yra dalelių dydis [9]. Itin smulkios dalelės (vidutinis masės aerodinaminis skersmuo, MMAD, <2 μ m [10]), generuojamos per aerozolius sukuriiančius inhaliatorius, turi didesnę galimybę patekti į smulkiuosius kvėpavimo takus, lyginant su ne itin smulkias daleles sukuriiančiais prietaisais [11–13], dėl to daugiau vaisto nusėda apatiniuose kvėpavimo takuose ir mažiau burnaryklėje [14], taip vietiskai sumažinami nepageidaujami vaistų poveikiai.

Sergantiesiems LOPL, kurie patiria ligos paūmėjimus, nepaisant vartojamo ilgo veikimo β_2 agonisto (IVBA) ir ilgo veikimo muskarino receptorių antagonisto (IVMA) derinio, taip pat tiems, kurie kenčia nuo simptomų, patiria ligos paūmėjimus, nepaisant įkvėpiamojo gliukokortikoido (IGK) derinyje su IVBA, rekomenduojama skirti trigubą terapiją: IVBA su IVMA ir IGK (15). Šiuo metu pasaulyje prieinami du skirtingi trigubos

terapijos deriniai, skirti LOPL gydyti. Vienas jų – beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas (BDP / FF / GB), įkvėpiami per itin smulkias vaisto daleles formuojantį suspausto oro dozuotą inhaliatorių (pMDI); kitą derinį sudaro flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidiniumas (FluF / VI / UMEC), tiekiamas per sausų miltelių ne itin smulkių dalelių inhaliatorių (DPI). Atliktas tyrimas, kurio tikslas buvo įvertinti šių dviejų trigubos terapijos vaistų derinių nusėdimą (depoziciją) plaučiuose.

METODIKA

Vertinimui naudotas funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas (angl. *functional respiratory imaging*, FRI), pasitelkiant kompiuterinę tomografiją ir skysčių dinamikos skaičiavimo techniką, kuriai svarbu aerozolio patekimo sergančiajam savybės, pakartotiniai didelės skiriamosios gebos kompiuterinės tomografijos tyrimai (DSGKT) ir tai, kaip pacientas sukvėpuoja vaistus. Tai leidžia imituoti vaisto nusėdimą plaučiuose.

Į tyrimą LOPL sergantieji nebuvo įtraukti. Naudoti 3D kvėpavimo takų ir plaučių, atitinkančių LOPL sergančių pacientų nuo vidutinio sunkumo iki labai sunkios bronchų obstrukcijos, vaizdavimai iš FLUIDDA duomenų bazės, kurie yra kintami priklausomai nuo tariamo paciento amžiaus ir ūgio. Vizualizuojami visi kvėpavimo takai – tiek viršutiniai (įskaitant ir burną), tiek apatiniai kvėpavimo takai. Straipsnyje pateikiami duomenys labiau orientuoti į apatinius kvėpavimo takus, kurie dar suskirstyti į centrinius kvėpavimo takus (nuo trachėjos pradžios ir įtraukiant visus DSGKT tyrime matomus kvėpavimo takus) bei periferinius (t. y. smulkiuosius, labiausiai nutolusius).

REZULTATAI

Vertinta kiekvieno inhaliatoriaus atskirų komponentų – IGK, IVBA, IVMA depozicija plaučiuose. BDP / FF / GB per pMDI tiekta vidutiniškai nuo 16 iki 68 l/min. srautu; FluF / VI / UMEC per DPI – nuo 30 iki 90 l/min. (srautų skirtumai yra dėl teisingo prietaiso naudojimo instrukcijų skirtumų). Kiekvienam paciento modeliui atsitiktine tvarka buvo priskirti du inhaliacijos srauto profiliai, kiekvienam paciento modeliui priskiriant po vieną žemo srauto profilį (vidutiniškai 44 l/min. [35–61 l/min. diapazonas]) ir vieną didelio srauto profilį (77 [59–94] l/min.). Srautai nebuvo pritaikyti pagal amžių ir buvo daroma prielai-

Farmakoterapija

da, kad inhaliatoriai buvo naudojami teisingai (t. y. be įkvėpimo klaidų). Taip pat daryta prielaida, kad visos įkvėptos vaisto dalelės nusėda, o jei jos nėra nusėdusios nei viršutiniuose, nei centriniuose kvėpavimo takuose, tai reiškiąs pateko į periferinius kvėpavimo takus.

Į analizę buvo įtraukti 20 LOPL sergančių pacientų DSGKT tyrimų duomenys (1 lentelė).

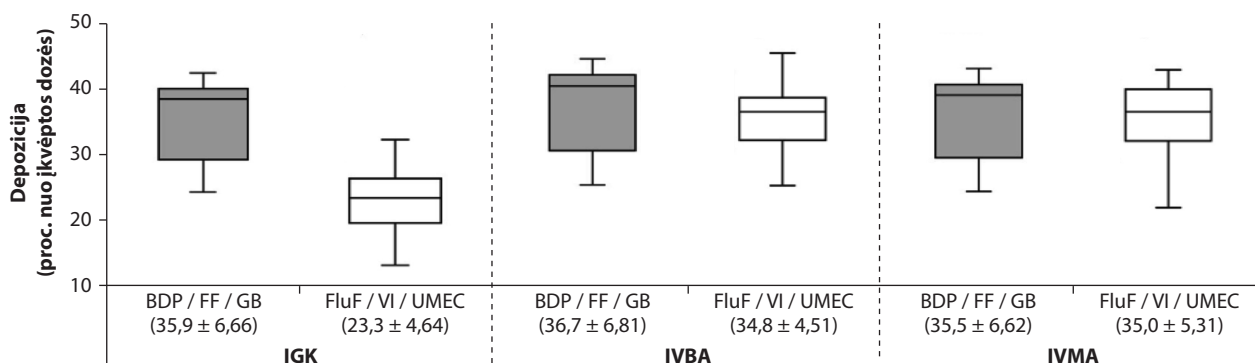
Vertinant bendrą vaisto nusėdimą centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose procentine dalimi nuo išskirtos vaisto dozės, nustatyta, kad IGK depozicija plaučiuose buvo didesnė, skiriant BDP / FF / GB (35,9 ± 6,7 proc.), palyginus su FluF / VI / UMEC (23,3 ± 4,6 proc.). Tačiau vertinant IVBA ir IVMA depoziciją, rezultatai buvo panašūs, atitinkamai – 36,7 ± 6,8 proc. ir 34,8 ± 4,5 proc. bei 35,5 ± 6,5 proc. ir 35,0 ± 5,3 proc. (1 pav.). Visų trijų komponentų depozicija periferiniuose kvėpavimo takuose buvo didesnė skiriant BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC (IGK: 24,5 ± 5,1 ir 8,6 ± 3,0; IVBA: 25,0 ± 5,3 ir 18,2 ± 3,9; IVMA: 24,1 ± 5,1 ir 16,8 ± 4,9; 2 pav.). Šiuos rezultatus patvirtino statistinio lygiavertiškumo

analizė, kai BDP / FF / GB (t. y. BDP) IGK komponento bendrai centriniuose ir periferiniuose bei išskirtinai periferiniuose kvėpavimo takuose depozicija buvo

1 lentelė. Pacientų, kuriems buvo atliktas didelės skiriamosios gebos kompiuterinės tomografijos tyrimas, charakteristikos

Parametrai	Pacientai (n=20)
Vyrai, n (proc.)	15 (75,0)
Amžius, metais	64,0 ± 7,68 (44–77)
Ūgis, cm	168,9 ± 8,40 (158–188)
Rūkymo anamnezė, pakmečiais	51,3 ± 29,5 (25–110)
Podilatacinis FEV ₁ , lyginant su būtinuoju dydžiu:	42,3 ± 14,8 (19,3–66,0)
50–80 proc., n (proc.)	7 (35,0)
30–50 proc., n (proc.)	8 (40,0)
<30 proc., n (proc.)	5 (25,0)
Podilatacinis FEV ₁ ir FVC santykis	0,41 ± 0,14 (0,17–0,62)

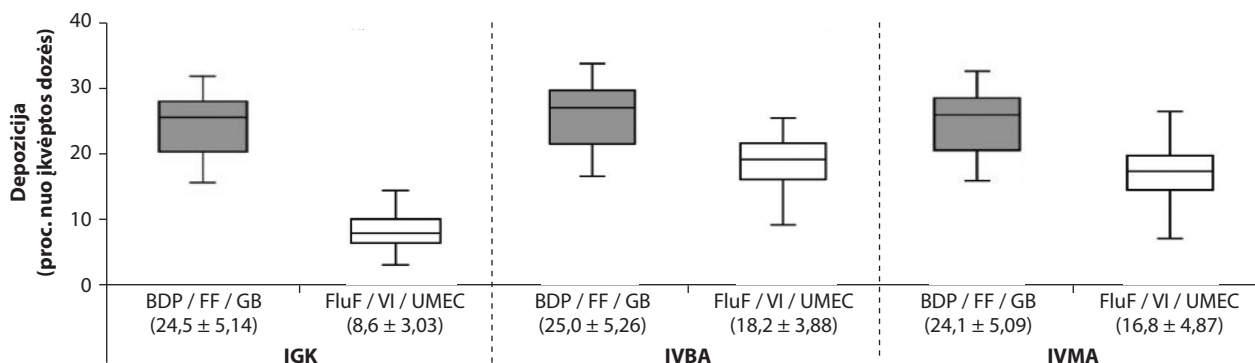
Duomenys pateikti vidurkiu ± standartinio nuokrypiu (nurodant diapazoną), jei nenurodyta kitaip. FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę; FVC – forsuota gyvybinė talpa.



1 pav. BDP / FF / GB ir FluF / VI / UMEC depozicijos bendrai centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose dozė vertinant nuo įkvėpto vaisto kiekio

X ašies skliaustuose duomenys pateikiami vidurkiu ± standartinio nuokrypiu. Stačiakampių kraštinės žymi kvartiles, juoda linija – medianą, taip pat pateikiamos didžiausios ir mažiausios reikšmės.

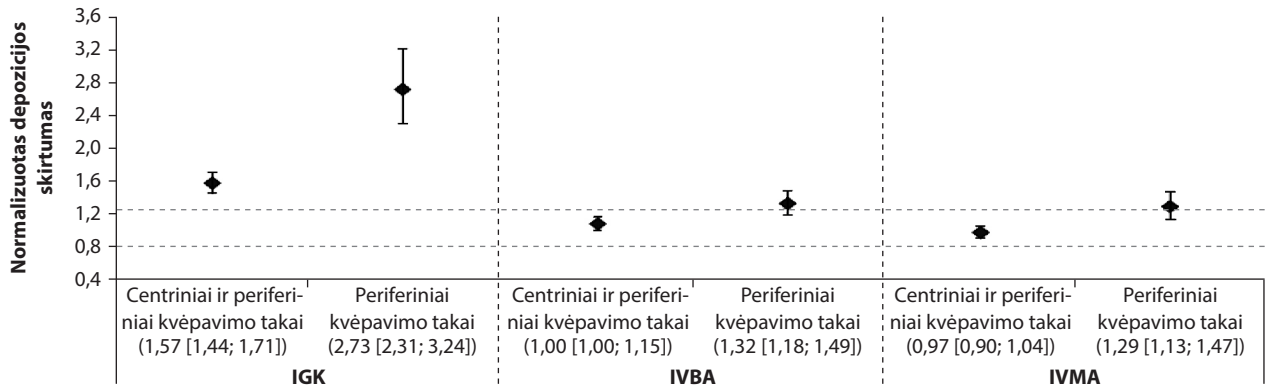
BDP / FF / GB – beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas, FluF / VI / UMEC – flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidinijumas, IGK – įkvėpiamasis gliukokortikoidais, IVBA – ilgo veikimo β₂ agonistas, IVMA – ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistas.



2 pav. BDP / FF / GB ir FluF / VI / UMEC depozicijos periferiniuose kvėpavimo takuose dozė vertinant nuo įkvėpto vaisto kiekio

X ašies skliaustuose duomenys pateikiami vidurkiu ± standartinio nuokrypiu. Stačiakampių kraštinės žymi kvartiles, juoda linija – medianą, taip pat pateikiamos didžiausios ir mažiausios reikšmės.

BDP / FF / GB – beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas, FluF / VI / UMEC – flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidinijumas, IGK – įkvėpiamasis gliukokortikoidais, IVBA – ilgo veikimo β₂ agonistas, IVMA – ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistas.



3 pav. Normalizuotas depozicijos skirtumas tarp BDP / FF / GB ir FluF / VI / UMEC.

Duomenys pateikiami vidurkiu ir 95 proc. pasikliautinoju intervalu. Brūkšninės horizontalios linijos yra biologinio ekvivalentiškumo riba [0,8; 1,25] [16]. BDP / FF / GB – beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas, FluF / VI / UMEC – flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidiniumas, ICG – įkvėpiamasis gliukokortikoidais, IVBA – ilgo veikimo β_2 agonistas, IVMA – ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistas.

žymiai didesnė, lyginant su FluF / VI / UMEC ICG komponentu UMEC (3 pav.).

Vertinant IVBA komponentą, nors vaisto nusėdimas centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose

atitiko ekvivalentiškumo apibrėžimą, viršutinė pasikliautinojo intervalo riba viršijo 1,25 ir 1 reikšmė į intervalą nepateko, o tai rodo, kad didesnė IVBA komponento depozicija nustatyta skiriant BDP / FF

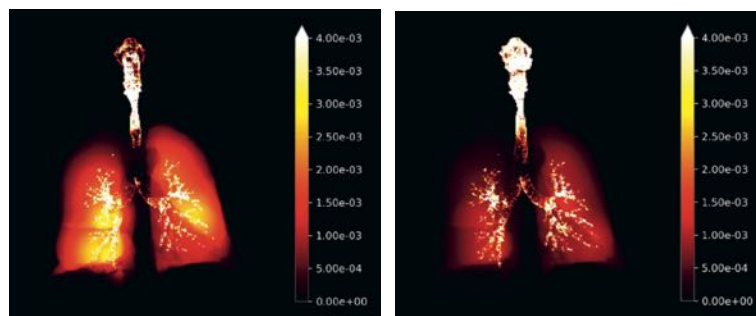
2 lentelė. Vaistų depozicija centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose santykis (bendras ir pagal GOLD sunkumą)

Komponentas	BDP/FF/GB (N=20)			FluF/VI/UMEC (N=20)		
ICG	0,48 ± 0,13			1,96 ± 0,84		
IVBA	0,48 ± 0,13			0,97 ± 0,34		
IVMA	0,49 ± 0,13			1,20 ± 0,48		
	LOPL sergančiųjų skirstymas pagal GOLD bronchų obstrukcijos sunkumo grupes			LOPL sergančiųjų skirstymas pagal GOLD bronchų obstrukcijos sunkumo grupes		
	2 (N=7)	3 (N=8)	4 (N=5)	2 (N=7)	3 (N=8)	4 (N=5)
ICG	0,45	0,49	0,51	1,75	2,06	2,09
IVBA	0,45	0,49	0,51	0,86	1,05	0,99
IVMA	0,45	0,49	0,52	1,05	1,30	1,26

Duomenys pateikiami vidurkiu ± standartiniu nuokrypiu, o reikšmė žemiau 1 rodo didesnę depoziciją periferiniuose nei centriniuose kvėpavimo takuose.

LOPL sunkumas pagal GOLD laipsnius: 2 laipsnio – podilatacinis FEV₁; yra 50–80 proc. būtinąjo dydžio, 3 laipsnio – 30–50 proc., 4 laipsnio – <30 proc.

BDP / FF / GB – beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas, FluF / VI / UMEC – flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidiniumas, ICG – įkvėpiamasis gliukokortikoidais, IVBA – ilgo veikimo β_2 agonistas, IVMA – ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistas, GOLD – Pasaulinė lėtinės obstrukcinės plaučių ligos iniciatyva.



4 pav. BDP / FF / GB (kairėje) ir FluF / VI / UMEC (dešinėje) depozicijos apatiniuose kvėpavimo takuose vizualizavimas (Ryškiai geltona spalva žymi didesnę depoziciją)

BDP / FF / GB: beklometazono dipropionatas / formoterolio fumaratas / glikopironio bromidas, FluF / VI / UMEC: flutikazono furoatas / vilanterolis / umeklidiniumas.

/ GB. Analogiški rezultatai nustatyti vertinant ir IVMA depoziciją centriniuose bei periferiniuose kvėpavimo takuose – viršutinė pasikliautinojo intervalo riba viršijo 1,25, patikimumo intervale nebuvo 1, o tai rodo didesnę šio komponento nusėdimą vartojant BDP / FF / GB derinį. Be to, visų trijų BDP / FF / GB komponentų nusėdimas (depozicijos) centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose santykis buvo mažesnis nei 1, kas rodo didesnę nusėdimą periferiniuose nei centriniuose kvėpavimo takuose (2 lentelė). Kai kurių vaisto dalelių depozicijos centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose santykis saikiai didėja sulig GOLD (angl. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*, Visuotinė lėtinės obstrukcinės plaučių ligos iniciatyva) LOPL sunkumo laipsniu pagal bronchų obstrukciją (2 lentelė). Tai reiškia, kad kuo yra ryškesnė bronchų obstrukcija, tuo daugiau vaisto dalelių nusėda centriniuose kvėpavimo takuose, nors visų trijų BDP / FF / GB komponentų depozicija centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose nepakito.

Papildomas funkcinio kvėpavimo takų vaizdavimo technikos privalumas yra tai, kad ji leidžia vizualizuoti vaisto dalelių depoziciją plaučiuose. Kaip matyti 4 pav., BDP / FF / GB vaisto dalelės buvo nusėdusios tolygiai visuose apatiniuose kvėpavimo takuose, kai FluF / VI / UMEC nusėdimas periferiniuose kvėpavimo takuose buvo ribotas.

DISKUSIJA

Ši analizė, naudojant kompiuterines simuliacijas, parodė, kad itin smulkios vaisto BDP / FF / GB dalelės užtikrino didesnę vaisto depoziciją periferiniuose nei centriniuose kvėpavimo takuose.

Įdomu tai, kad IVBA ir IVMA komponentų depozicija centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose tiek skiriant BDP / FF / GB, tiek FluF / VI / UMEC buvo panaši. Tuo tarpu žymiai daugiau IGK komponento nusėdo centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose skiriant BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC. Tai svarbu ir dėl to, kad, skiriant BDP / FF / GB, mažiau IGK nusėda burnoje, viršutiniuose kvėpavimo takuose, tikėtina, kad ir mažesnė tikimybė pasireikšti su IGK vartojimu susijusiems vietiniams nepageidaujamiems poveikiams, įskaitant burnos kandidozę, balso užkimimą [15]. Pastarąją informaciją patikrinti reikėtų papildomuose realaus gyvenimo arba palyginamuosiuose atsitiktinių imčių kontroliuojamuose tyrimuose. Svarbu tai, kad visų trijų BDP / FF / GB komponentų pasiskirstymas periferiniuose kvėpavimo takuose buvo didesnis nei FluF / VI / UMEC, o vaistų depozicijos centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose santykis aiškiai parodė didesnę visų trijų BDP / FF / GB komponentų nusėdimą smulkiuosiuose kvėpavimo takuose, o tai ypač akivaizdu buvo su IGK. Šis didesnis vaisto nusėdimas periferiniuose kvėpavimo takuose turi galimų klinikinių pranašumų ne tik dėl to, kad smulkieji kvėpavimo takai yra pagrindinė LOPL oro srauto apribojimo vieta [1, 2], bet ir atsižvelgiant į tai, kad periferinių kvėpavimo takų paviršiaus plotas yra didesnis nei centrinių kvėpavimo takų [9]. Vienas iš galimų šio vaisto dalelių nusėdimo modelio paaiškinimų yra ypatinga BDP / FF / GB formuluotė. Tyrimuose įrodyta, kad šio vaisto dalelės geba pasiekti, nusėsti bei kauptis smulkiuosiuose kvėpavimo takuose [11, 14]. Priešingai, trijų FluF / VI / UMEC komponentų nusėdimo pobūdis skyrėsi, o IVBA ir IVMA komponentų nusėdimas centriniuose ir periferiniuose kvėpavimo takuose buvo beveik vienodas, tuo tarpu IGK komponentas beveik dukart dažniau nusėdavo centriniuose nei periferiniuose kvėpavimo takuose.

Smulkiuosius kvėpavimo takus tiesiogiai įvertinti yra sudėtinga, ypač naudojant standartinę spirometriją, nes FEV₁ nepakankamai tiksliai rodo smulkiųjų kvėpavimo takų patologiją. Todėl įvertinimui buvo naudojamos įvairios netiesioginės priemonės, įskaitant oro „spąstų“ vertinimą ir impulsų oscilometriją [17]. Funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas buvo sukurtas naudojant standartinę DSGKT įrangą kartu su kompiuteriniu modeliavimu, nereikalaujant jokios specializuotos įrangos arba technikos, todėl tai gali būti naudinga priemonė tiek klinikiniuose tyrimuose, tiek kasdienėje klinikinėje praktikoje. Be to, remiantis atliktos analizės rezultatais, funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas leidžia tiksliai

įvertinti atskirų komponentų – IGK, IVBA ir IVMA – depoziciją skiriant skirtingas trigubas terapijas LOPL gydyti. Funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas ypač naudingas vizualizuoti vaisto dalelių nusėdimą plaučiuose, o tai yra svarbi ir vaistų kūrimo proceso dalis. Nors yra ir kitų būdų įvertinti vaisto dalelių depoziciją plaučiuose, pvz., gama scintigrafija, priešingai nei funkcinis kvėpavimo takų vaizdavimas reikalinga speciali įranga ir metodai. Nepaisant šių skirtumų, ankstesni tyrimai, vertinę itin smulkių dalelių BDP / FF derinio nusėdimą plaučiuose, parodė panašius rezultatus, nepriklausomai nuo to, ar depozicija buvo vertinta funkcinio kvėpavimo takų vaizdavimu (28 proc.) [18], ar scintigrafija (31–34 proc.) [19, 20].

Atlikta analizė turi tam tikrų apribojimų. Pirma, įkvėpimas buvo imituojamas iš skirtingų pacientų nei tie, kurie atliko DSGKT tyrimus, o BDP / FF / GB simuliacijoms naudoti įkvėpimo profiliai buvo skirtingų pacientų nei naudoti FluF / VI / UMEC modeliavime. Tai lėmė praktinės priežastys: pacientams, kuriems buvo atlikta DSGKT, nebuvo galimybių simuliuoti vaisto įkvėpimus, o instrukcijos, kaip įkvėpti per DPI, nėra tas pats, kaip įkvėpti per pMDI, ypač dėl oro srautų skirtumo. Norint gauti reprezentatyvius rezultatus, buvo pasirinkti pacientai, sergantys įvairaus sunkumo LOPL. Antra, trigubos IGK / IVBA / IVMA terapijos didesnės depozicijos periferiniuose kvėpavimo takuose klinikinis poveikis (tiek efektyvumo, tiek toleravimo požiūriu) LOPL nebuvo įvertintas ir nėra atliktų tyrimų, tiesiogiai lyginusių dvi trigubas terapijas LOPL gydyti. Paskelbta daugybė sisteminių literatūros apžvalgų ir metaanalizių, kuriose bandoma netiesiogiai palyginti trigubas terapijas pacientams, sergantiems LOPL (skiriant vienu arba keliais inhaliatoriais), tačiau yra apribojimų, tokių kaip, skirtingi tyrimų dizainai, tirtų populiacijų skirtumai [21–23]. Trečia, šios analizės rezultatai gauti panaudojus duomenų bazes, nesant specialiai į tyrimą įtrauktų LOPL sergančių pacientų, todėl duomenys apie ligą buvo apriboti plaučių funkcija, nesant informacijos apie vartotus vaistus. Taip pat aukščiau aprašytoje analizėje naudoti du skirtingų sudedamųjų komponentų vaistų deriniai, tiekiami per skirtingus inhaliatorių tipus, todėl juos reikia lyginti atsargiai. Tačiau, skiriant LOPL gydymą, inhaliatorius turi būti pritaikomas individualiai, atsižvelgiant į paciento galimybes ir pageidavimus [15, 24]. Vis dėlto, itin smulkių dalelių tribuga terapija atsitiktinių imčių kontroliuojamuosiuose tyrimuose su sergančiais LOPL įrodė klinikinę naudą [25–28]. Šiuo atžvilgiu įkvepiamųjų vaisto molekulių gebėjimas pasiekti smulkiuosius kvėpavimo takus yra svarbus aspektas parenkant LOPL gydymą.

APIBENDRINIMAS

Visų trijų komponentų (IGK, IVBA ir IVMA) depozicija periferiniuose (smulkiuosiuose) kvėpavimo

Farmakoterapija

takuose buvo didesnė skiriamas BDP / FF / GB, palyginus su FluF / VI / UMEC. Vertinta naudojamų funkcinių kvėpavimo takų vaizdavimą, pagrįstą pacientų, sergančių vidutinio sunkumo arba labai sunkia LOPL, profiliais.

LITERATŪRA

1. **Higham A, Quinn AM, Cañado JED, Singh D.** The pathology of small airways disease in COPD: historical aspects and future directions. *Respir Res.* 2019;20(1):49.
2. **Koo HK, Vasilescu DM, Booth S, Hsieh A, Katsamenis OL, Fishbane N, et al.** Small airways disease in mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease: a cross-sectional study. *Lancet Respir Med.* 2018;6(8):591–602.
3. **Mead J.** The lung's "quiet zone. *N Engl J Med.* 1970;282(23):1318–9.
4. **Bhatt SP, Soler X, Wang X, Murray S, Anzueto AR, Beaty TH, et al.** Association between functional small airway disease and FEV1 decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;194(2):178–84.
5. **Hersh CP, Washko GR, Estépar RS, Lutz S, Friedman PJ, Han MK, et al.** Paired inspiratory-expiratory chest CT scans to assess for small airways disease in COPD. *Respir Res.* 2013;14(1):42.
6. **Crisafulli E, Pisi R, Aiello M, Vigna M, Tzani P, Torres A, et al.** Prevalence of small-airway dysfunction among COPD patients with different GOLD stages and its role in the impact of disease. *Respiration.* 2017;93(1):32–41.
7. **Tzani P, Crisafulli E, Nicolini G, Aiello M, Chetta A, Clini EM, et al.** Effects of beclomethasone/ formoterol fixed combination on lung hyperinflation and dyspnea in COPD patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2011;6:503–9.
8. **Usmani OS.** Treating the small airways. *Respiration.* 2012;84(6):441–53.
9. **Lipworth B, Manoharan A, Anderson W.** Unlocking the quiet zone: the small airway asthma phenotype. *Lancet Respir Med.* 2014;2(6):497–506.
10. **Hillyer EV, Price DB, Chrystyn H, Martin RJ, Israel E, van Aalderen WMC, et al.** Harmonizing the nomenclature for therapeutic aerosol particle size: a proposal. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2018;31(2):111–3.
11. **Braido F, Scichilone N, Lavorini F, Usmani OS, Dubuske L, Boulet LP, et al.** Manifesto on small airway involvement and management in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: an Interasma (Global Asthma Association - GAA) and World Allergy Organization (WAO) document endorsed by Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma. *World Allergy Organ J.* 2016;9(1):1–6.
12. **Lavorini F, Pedersen S, Usmani OS; on behalf of the Aerosol Drug Management Improvement Team (ADMIT).** Dilemmas, confusion, and misconceptions related to small airways directed therapy. *Chest.* 2017;151(6):1345–55.
13. **Usmani OS, Barnes PJ.** Assessing and treating small airways disease in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Med.* 2012;44(2):146–56.
14. **Usmani OS, Biddiscombe MF, Barnes PJ.** Regional lung deposition and bronchodilator response as a function of beta2-agonist particle size. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(12):1497–504.
15. **Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.** Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease; 2020. Available from: <https://gold.copd.org/gold-reports/>. Accessed September 5, 2020.
16. **US Food and Drug Administration.** Statistical approaches to establishing bioequivalence; 2001. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/statistical-approaches-establishing-bioequivalence>. Accessed September 5, 2020.
17. **Bonini M, Usmani OS.** The role of the small airways in the pathophysiology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Respir Dis.* 2015;9(6):281–93.
18. **Usmani O, Vos W, Mignot B, Georges G, Scuri M, Valente J, et al.** Lung deposition of extrafine inhaled corticosteroid (ICS)-containing fixed combinations drug in COPD patients using Functional Respiratory Imaging (FRI). *Eur Respir J.* 2018;52(62):PA1015.
19. **De Backer W, Devolder A, Poli G, Acerbi D, Monno R, Herpich C, et al.** Lung deposition of BDP/ formoterol HFA pMDI in healthy volunteers, asthmatic, and COPD patients. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2010;23(3):137–48.
20. **De Maria R, Zagnoni I, Bodria A, Bonelli S, Alberi MD, Lewis DA, et al.** Foster®: a high-efficiency combination metered dose inhaler with consistent particle size distribution at alternative flow rates. *Comb Prod Ther.* 2014;4(1–2):1–5.
21. **Langham S, Lewis J, Pooley N, Embleton N, Langham J, Han MK, et al.** Single-inhaler triple therapy in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Respir Res.* 2019;20(1):242.
22. **Lopez-Campos JL, Carrasco-Hernandez L, Quintana-Gallego E, Calero-Acuña C, Márquez-Martín E, Ortega-Ruiz F, et al.** Triple therapy for COPD: a crude analysis from a systematic review of the evidence. *Ther Adv Respir Dis.* 2019;13:175346661988552.
23. **Zheng Y, Zhu J, Liu Y, Lai W, Lin C, Qiu K, et al.** Triple therapy in the management of chronic obstructive pulmonary disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2018;363:k4388.
24. **Bonini M, Usmani OS.** The importance of inhaler devices in the treatment of COPD. *COPD Res Pract.* 2015;1(1):1–9.
25. **Singh D, Corradi M, Spinola M, Papi A, Usmani OS, Scuri M, et al.** Triple therapy in COPD: new evidence with the extrafine fixed combination of beclomethasone dipropionate, formoterol fumarate, and glycopyrronium bromide. *Int J COPD.* 2017;12:2917–28.
26. **Papi A, Vestbo J, Fabbri L, Corradi M, Prunier H, Cohuet G, et al.** Extrafine inhaled triple therapy versus dual bronchodilator therapy in chronic obstructive pulmonary disease (TRIBUTE): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet.* 2018;391(10125):1076–84.
27. **Singh D, Papi A, Corradi M, Pavlišová I, Montagna I, Francisco C, et al.** Single inhaler triple therapy versus inhaled corticosteroid plus long-acting β_2 -agonist therapy for chronic obstructive pulmonary disease (TRILOGY): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;388(10048):963–73.
28. **Vestbo J, Papi A, Corradi M, Blazhko V, Montagna I, Francisco C, et al.** Single inhaler extrafine triple therapy versus long-acting muscarinic antagonist therapy for chronic obstructive pulmonary disease (TRINITY): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet.* 2017;389(10082):1919–29.

Reikalavimai autoriams

1. BENDROJI INFORMACIJA

1.1. Autorius, pateikdamas rankraštį žurnalo „Pulmonologija ir alergologija“ redakcijai, patvirtina, kad kiti bendraautoriai (jei tokių yra) rankraštį peržiūrėjo, sutinka publikuoti, nėra interesų konflikto. Rankraščio pateikimas redakcijai, prilyginamas pasirašytam „Autorinių teisių patvirtinimo dokumentui“. Taip leidėjas įgauna teisę į rankraštį, apsaugodamas jį nuo neteisėto kopijavimo bei dauginimo.

1.2. Skelbiama medžiaga turi būti nauja arba aktuali, visais atvejais teisinga, tiksli, aiškiai ir logiškai išanalizuota bei aptarta.

1.3. Negalima siųsti anksčiau spaudoje publikuotų straipsnių, išskyrus skelbtus kaip tezes, paskaitas arba apžvalgos dalis. Jeigu bent vienas iš autorių anksčiau publikavo spaudoje straipsnį, kuriame panaudota ta pati tiriamoji medžiaga arba jos dalis, jis privalo apie tai pranešti leidėjui, pateikdamas anksčiau spausdinto (-ų) straipsnio(-ių) kopiją (-as).

1.4. Straipsnio autorių skaičius neturi viršyti šešių. Rekomencijoms autorių skaičiaus apribojimams netaikomi. Kiekvienas straipsnio autorius turi būti aktyviai dalyvavęs tiek vykdant tyrimą, tiek rašant straipsnį spaudai.

1.5. Autoriais gali būti asmenys:

- Tiesiogiai dalyvavę planuojant tyrimą (iškeliant hipotezes, parenkant tyrimo metodus) arba analizuojant ir interpretuojant rezultatus.
- Rašę straipsnį arba konsultavę rašantįjį konkrečios temos klausimais.
- Sutinkantys su visa informacija, pateikiama galutinėje straipsnio versijoje, ir prisiimančys visą atsakomybę už tos informacijos teisingumą.

Visi autoriai turi atitikti visus tris išvardytus kriterijus. Kitu būdu prie straipsnio rašymo prisidėję asmenys gali būti atskirai paminėti padėkų skirsnyje.

1.6. Straipsniuose pateikti autorių vertinimai, nuomonės ir rekomencijos nebūtinai sutampa su redaktorių arba leidėjo nuomonėmis. Dėl to nei redaktoriai, nei leidėjas neprisiima atsakomybės už šią informaciją.

1.7. Rankraštyje neturi būti spausdinimo klaidų.

1.8. Kiekvienas rankraštis peržiūrimas žurnalo redaktorių, kalbos redaktorių, maketuojamas ir prieš spausdinimą persiunčiamas autoriaus peržiūrai. Autorius atsakingas už spausdinimo klaidų suradimą, teksto pakeitimus, papildymus. Korektūros turi būti grąžintos leidėjui per 48 val. Po šio paskutinio suderinimo straipsnis bus išspausdintas. Vėlesni papildymai nebepriimami.

1.9. Žurnalo skilties „Moksliniai darbai ir apžvalgos“ **straipsniai recenzuojami**. Moksliniai straipsniai turi būti parašyti laikantis mokslinio kalbos stiliaus reikalavimų, terminai rašomi lietuviškai, kai nėra atitikmens – lotyniškai. Už terminus atsako pats autorius.

1.10. Autorius gali turėti slaptos recenzijos teisę, kuomet recenzentui nepateikiama informacija apie rankraščio autorius. Dėl to jis išpėja vyriausiąjį redaktorių laiške, atsiųstame kartu su straipsniu.

1.11. Informacija apie išleistas naujas knygas spaus-

dinama atsiuntus originalų knygos egzempliorių, kuris negražinamas.

2. RANKRAŠČIO APIMTIES IR STRUKTŪROS REIKALAVIMAI

2.1. Visas rankraštis neturi viršyti 30 000 spaudos ženklų, skaičiuojant be tarpų (įskaitant ir lenteles), išskyrus „Farmakoterapija“ skyriaus straipsnius, kurie neturi viršyti 25 000 spaudos ženklų, skaičiuojant be tarpų (įskaitant ir lenteles). Klinikinių atvejų aprašymas neturi viršyti 5000 spaudos ženklų, remtis ne daugiau nei 10 literatūros šaltiniais.

2.2. Rankraštis turi būti pateikiamas elektroniniu paštu kaip tekstinis *Word* dokumentas, eilutes spausdinant per 6 mm (1,5 intervalo), *Times New Roman* 12 pt. dydžio šriftu, lygiavimas – iš abiejų pusių, reikia palikti 2,5 cm paraštes. Pusp lapiai ir eilutės turi būti sunumeruoti.

2.3. Išlaikyti straipsnio struktūrą:

- **Titulinis lapas:** straipsnio pavadinimas (lietuvių ir anglų kalbomis), autorių vardai ir pavardės, jų darbovietės, su redakcija kontaktuojantis asmuo, jo elektroninio pašto adresas, pageidautina ir telefonas. Nurodoma, kuriame žurnalo skyriuje norima straipsnį spausdinti:
 - Aktualijos.
 - Rekomencijos.
 - Pulmonologija ir alergologija (profesinis tobulėjimas).
 - Disertacijos.
 - Moksliniai darbai ir apžvalgos (straipsniai yra recenzuojami).
 - Mokslinės tezės.
 - Farmakoterapija.
- **Straipsnio santrauka ir raktiniai žodžiai** (lietuvių ir anglų kalbomis). Kiekviena santrauka ne platesnė kaip 1000 spaudos ženklų, išskyrus mokslinių darbų ir apžvalgų – iki 2000 spaudos ženklų, skaičiuojant be tarpų. Raktažodžiai – iki penkių informatyvių žodžių arba frazių.

„Moksliniai darbai ir apžvalgos“ skyriaus straipsnio santrauka turi būti struktūrizuota, visų kitų – standartinės.

Struktūrizuota santrauka. Jos apimtis iki 2000 spaudos ženklų. Struktūrizuotą santrauką sudaro šios dalys: *Įvadas. Tyrimo tikslas (-ai). Tyrimo metodai. Rezultatai. Išvada (-os) / apibendrinimas.*

Standartinė santrauka. Jos apimtis yra iki 1000 spaudos ženklų. Klinikinių atvejų santrauka neturi viršyti 600 spaudos ženklų.

2.4. **Reikalavimai moksliniam straipsniui (recenzuojami):**

- *Įvadas.* Jame įvardijama tyrimo problema, jos ištirtumo laipsnis, sprendimo naujumo argumentacija, pažymimi svarbiausi tos srities mokslo darbai, tyrimo tikslas, objektas.
- *Tyrimo metodų* dalyje nurodoma tyrimo atlikimo vieta, tirtų asmenų ar medžiagos skaičius ir apibūdinimas, aprašomas gydymas arba intervencijos, naudoti sta-

tistinės analizės metodai. Jei taikomi tyrimo metodai nelabai paplitę arba pripažinti, reikia nurodyti priežastis, skatinusias juos pasirinkti. Aprašomi originalūs metodai arba pateikiamos nuorodos į literatūroje aprašytus standartinius metodus, nurodoma naudota aparatūra. Tyrimai, kuriuose dalyvauja žmonės, turi būti atlikti remiantis Helsinkio deklaracijos principais.

- *Rezultatų* dalyje aprašoma tyrimų baigtis, pateikiamas glaustas, nuoseklus ir logiškas apibendrinimas, nurodomas jų statistinis patikimumas. Dalis rezultatų gali būti pateikti grafikų, lentelių pavidalo.
- *Rezultatų aptarimas*. Aptarimo pradžioje rekomenduojame pateikti pagrindinius originalius straipsnio teiginius (išvadas), kilusius iš tyrimo duomenų. Rezultatų aptarimą rekomenduojama struktūrizuoti išskiriant potemes (kiekvieną originalų atrastą teiginį rekomenduojame aptarti atskira poteme). Tyrimo rezultatai ir išvados lyginami su kitų autorių paskelbtais analogiškais duomenimis, įvertinami jų tapatumai ir skirtumai. Ypač svarbu pabrėžti tyrimo duomenų originalumą. Reikia vengti kartoti tuos faktus, kurie pateikti tyrimų rezultatų dalyje.
- *Išvados / apibendrinime* aprašoma tyrimo rezultatų svarba ir naudingumas. Rekomenduojama nurodyti tolesnių tyrimų perspektyvas.
- *Literatūros sąrašas* (detalesni reikalavimai pateikiami 2.11 punkte).

2.5. Reikalavimai mokslinei apžvalgai (recenzuojamai). Moksliniai straipsniai turi būti parašyti laikantis mokslinio kalbos stiliaus reikalavimų ir, pageidautina, atitiktų mokslinio straipsnio struktūrinės dalis (žr. 2.4.), tačiau mokslinėje apžvalgoje 2.4. 3–7 punktus nebūtina išskirti atskirai (minėtų punktų nuoseklumas gali būti juntamas tekste), atsisakant tik punktų, kurie pagal rankraščio pobūdį būtų nelogiški. Rankraštis neturi viršyti 30 000 spaudos ženklų, skaičiuojant be tarpų (įskaitant ir lenteles). Santrauka standartinio formato nuo 1500 iki 3000 spaudos ženklų, skaičiuojant be tarpų. Pateikiami 3–5 reikšminiai žodžiai.

Metodų skyriuje reikėtų nurodyti duomenų bazes, kuriomis buvo naudotasi. Atskirai apibendrinami retrospektyviųjų ir perspektyviųjų tyrimų rezultatai. Reikalavimai literatūros sąrašui pateikiami 2.10 punkte.

2.6. Reikalavimai mokslinei tezei.

Tekstas turi būti parašytas laikantis mokslinio kalbos stiliaus reikalavimų ir atitikti struktūrinės santraukos dalis: Įvadas. Tyrimo tikslas(ai). Tyrimo metodai. Rezultatai. Išvada(os)/Apibendrinimas. Apimtis iki 2000 spaudos ženklų (skaičiuojant be tarpų). Gali būti viena lentelė arba grafikas.

2.7. Teksto rašymo stilius. Svoriui, matmenims, procentams ir laipsniams žymėti turi būti vartojami arabiški skaitmenys ir tarptautinės (SI) vienetų sistemos žymėjimas: kg, g, mg, mmol, m, cm ir t. t. Ženklas % vartojamas angliškame tekste ir lentelėse. Lietuviškame tekste rašoma proc. Nurodykite visų farmakologinių preparatų (medikamentų) tarptautinius pavadinimus, grupę, kuriai jie priklauso ir, kur reikia, skliaustuose pažymėkite firminį pavadinimą bei įmonės pavadinimą.

Pirmą kartą tekste minimi sutrumpinimai turi būti paaiškinti. Skaičių trupmeninė dalis skiriama kableliu (pvz., 2,15, o ne 2.15).

2.8. Paveikslai (pageidautina ne daugiau kaip 4–5 pav.) žymimi arabiškais skaitmenimis eilės tvarka ir pateikiami atskiru nuo pagrindinio teksto dokumentu. Pavadinimas

rašomas po paveikslu, pirmiausia pažymint paveikslą eilės numerį, pvz., 1 pav. Paveikslus pateikti atviru formatu (kad būtų galima redaguoti). Visi skaitiniai arba raidiniai žymėjimai paveiksle turi būti aiškūs ir pakankamo dydžio (1,5–2 mm).

2.9. Lentelės. Turi būti kiekvienos lentelės pavadinimas, sunumeruota arabiškais skaitmenimis ir atspausdinta atskirame lape. Turėtų būti vartojamos tik standartinės, visiems suprantamos santrumpos, kurios paaiškinamos po lentele. Lentelių medžiagą autoriai turi paruošti suprantamai. Tekste jos turi būti žymimos kaip „1 lentelė“ ir t. t. Jei tekste pateikiama tik viena lentelė, ji skaičiaus neturi (t. y. Lentelė).

2.10. Padėka. Padėka rašoma tik asmenims arba organizacijoms, kurie tiesiogiai dalyvavo studijos vykdyme arba ją parėmė tiek intelektualiai, tiek materialiai.

2.11. Literatūros sąrašas. Literatūros sąrašas sudaromas remiantis Vankuverio sistema ir vieningais reikalavimais biomedicinos žurnalų rankraščiams (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. JAMA. 1997; 277: 927–34). Turėtų būti nurodoma ne daugiau 50 literatūros šaltinių, išskyrus mokslines apžvalgas ir rekomendacijas – ne daugiau 100 literatūros šaltinių; pageidautina paskutinio dešimtmečio. Literatūros šaltiniai sąraše pateikiami ta kalba, kuria buvo išspausdinti, straipsnyje jie nurodomi arabiškais skaičiais laužtiniuose skliaustuose pradedant citavimą nuo [1]. Nurodyti visus autorius, jei jų yra šeši ir mažiau. Kai autorių yra daugiau, išvardijami pirmieji šeši ir rašoma „ir kt.“, „et al.“.

Literatūros sąrašo pavyzdžiai:

• Straipsnis iš žurnalo

Johnston LK, Hsu CL, Krier-Burris RA, Chhiba KD, Chien KB, McKenzie A, et al. IL-33 Precedes IL-5 in regulating eosinophil commitment and is required for eosinophil homeostasis. J Immunol. 2016; 197(9):3445–53.

• Straipsnis iš konferencijų, kongresų, suvažiavimų medžiagos

Pelosi P. Acute respiratory failure and critical care. In: Pneumo update Europe 2017, 4th European update congress in pneumology; 2017 June 9–10; Vienna, Austria.

• Straipsnis iš knygos

Bourbon J, Henrion-Caude A, Gaultier C. Molecular basis of lung development. In: Gibson GJ, Geddes DM, Costable U, Sterk PJ, Corrin B, eds. Respiratory medicine. 3rd Edn. Edinburgh/Philadelphia, Elsevier Science, 2002; pp. 64–81.

• Knyga

Vigneswaran W, Garrity E, Odell J, eds. Lung transplantation: principles and practice. 1st ed. Boca Raton, FL: Taylor&Francis Group, LCC: 2015.

• Interneto adresų ir kitų elektroninių šaltinių įrašai

WHO. Severe acute respiratory syndrome (SARS). www.who.int/csr/sars/en/index.html. Date last updated: June 1 2004. Date last accessed: June 1 2004.

2.12. Rankraščiai žurnalo skiltims „Moksliniai darbai ir apžvalgos“, „Mokslinės tezės“ pateikiami atitinkamai iki einamų metų kovo 1 d. arba rugpjūčio 1 d., kiti straipsniai – iki kovo 15 d. arba rugpjūčio 1 d.

2.13. Reikalavimų autoriams, recenzijos ir autorių teisių patvirtinimo dokumento (kurio pasirašymui prilyginamas rankraščio pateikimas redakcijai) pavyzdžio elektroninės formos pateikiamos el. adresu <http://www.pulmoalerg.lt>

Requirements for authors

1. GENERAL INFORMATION

1.1. By submitting the manuscript to the editorial office of the journal "Pulmonology and Allergology", the author confirms that the other co-authors (if there is any) have reviewed the manuscript agreed to publish it; there is no conflict of interest. Manuscript submission to the editorial office is equivalent to a signed "Copyright Confirmation Document". Thus, the publisher acquires the right to the manuscript, protecting it from illegal copying and reproduction.

1.2. The published material must be new and relevant; correct, accurate, clearly and logically analyzed and discussed in all cases.

1.3. Previously published articles may not be submitted, except those published as abstracts, lectures or reviews. If at least one of the authors has previously published an article using the same research material or part of it, he must inform the publisher by providing a copy(s) of the previously printed article(s).

1.4. The number of manuscript authors should not exceed six. Recommendations do not object to authorship restrictions. Each author of the manuscript must be actively involved both in the study and in writing the manuscript.

1.5. Authors can be individuals:

- Directly involved in planning the study (hypothesizing, selecting research methods) or analyzing and interpreting the results.
- Writing a manuscript or advising the writer on a specific topic.
- Agree to all information provided in the final version of the manuscript and take full responsibility for the accuracy of that information.

All authors must meet all three criteria listed. Other people who contributed to the manuscript may be mentioned separately in the section 'Acknowledgments'.

1.6. Assessments, opinions and recommendations of the authors reflected in the articles do not necessarily coincide with the opinions of the editors or the publisher. Therefore, neither the editors nor the publisher accepts responsibility for this information.

1.7. The manuscript must be free of typing errors.

1.8. Each manuscript is reviewed by a journal editor, language editor, the layout is performed, and forwarded to the author for review before printing. The author is responsible for finding typing errors; text changes and additions are made if necessary. Proofread PDF files must be returned to the publisher within 48 hours. After this last alignment, the manuscript will be published. Subsequent additions will not be accepted.

1.9. Manuscript in the "Scientific Papers and Reviews" section of the journal is **peer-reviewed**. Scientific articles must be written in accordance with the requirements of the scientific language style, and the terms must be written in the original language of the manuscript or in Latin if there is no equivalent. The terms are the responsibility of the author.

1.10. The author may choose a secret review whilst the reviewers are not provided with information about the author of the manuscript. In this case, the author must request the

editor-in-chief for a secret review in an email when sending the manuscript.

1.11. Information on newly published books is printed after the original non-returnable copy of the book has been received by the editorial office.

2. REQUIREMENTS FOR THE STRUCTURE OF THE MANUSCRIPT

2.1. The whole manuscript must not exceed 30,000 characters, counting without spaces (including tables), except for articles in the Pharmacotherapy section, which must not exceed 25,000 characters, counting without spaces (including tables). The description of clinical cases should not exceed 5,000 characters, based on up to 10 literature sources.

2.2. The manuscript must be submitted by email as a Word text document, 6 mm between printed lines (1.5 intervals), font size Times New Roman 12 pt., alignment of 2.5 cm the margin on both sides. The lines and pages of the manuscript must be numbered.

2.3. All scientific papers have the same general format. They are divided into distinct sections, and each section contains a specific type of information:

- **Title page:** Title of the manuscript (in Lithuanian and English), names and surnames of the authors, their workplaces, person contacting the editorial board, email address, preferably, a mobile number. Specified section of the journal wherein the manuscript should be printed:
 - Topic news.
 - Recommendations.
 - Pulmonology and allergology.
 - Dissertations.
 - Scientific articles and reviews (articles are peer-reviewed).
 - Scientific theses.
 - Pharmacotherapy.

- **Manuscript summary and keywords** (in Lithuanian and English). Each summary must not exceed 1,000 characters, except for scientific papers and reviews, up to 2,000 characters, without spaces. Up to five informative words or phrases as keywords.

The summary of the manuscript in the "Scientific articles and reviews" section should be structured, all others are written in standard.

Structured summary. Up to 2,000 characters. Consists of the following parts: *Introduction, Objective(s), Materials and methods, Results, Conclusion/Summary.*

Standard summary. Up to 1,000 characters. The clinical case summary should not exceed 600 characters.

2.4. **Requirements for a scientific article (peer-reviewed):**

- *Introduction.* Names the purpose of the scientific research project, the most important scientific works in the field, the aim and objective(s) of the research, novelty and the originality of the research idea.
- *Materials and methods* section indicates the location of the research project, the number and description of subjects or substances tested, describes the treatment or interventions and statistical analysis methods used.

Informacija

If any methods used are uncommon or not commonly accepted, the reasons for the authors choice must be stated. Original methods should be described or references to standard methods provided in references, any used equipment should be specified. Research involving human must be conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

- *Results* section describes the outcome of the study, provides a concise, consistent and logical summary, and indicates its statistical reliability. Some of the results can be presented in the form of graphs, tables.
- *Discussion of results*. At the beginning of the discussion, we recommend presenting the main original statements (conclusions) of the article, derived from the research data. It is recommended to structure the discussion of results by distinguishing subtopics (we recommend discussing each original statement discovered in a separate subtopic). Results and conclusions of the research are compared with the analogous data published by other authors; their identities and differences are evaluated. It is especially important to emphasize the originality and novelty of the research. Avoid repeating the facts presented in the research results section.
- *Conclusion/summary* describe the importance and usefulness of the research results. Indication of perspectives of further research is recommended.
- *References* (detailed requirements are given below).

2.5. Requirements for scientific review (peer-reviewed).

Scientific articles must be written in accordance with the requirements of the scientific language style and preferably comply with the structural parts of the scientific article (see 2.4). However, when submitting a scientific review, singling out points 2.4.3–2.4.7 is not necessary (the coherence of these points can be felt in the text), omitting points that would be illogical by the nature of the manuscript. The manuscript must not exceed 30,000 characters without spaces (including tables). The summary should be in a standard format, with 1,500–3,000 characters without spaces and 3–5 keywords.

The methods section should indicate the databases used. The results of retrospective and prospective studies are summarized separately. Requirements for the bibliography can be found in 2.10.

2.6. Requirements for scientific thesis. The text must be written in accordance with the requirements of the scientific language style and comply with the parts of the structural summary: Introduction, Objective(s), Materials and methods, Results, Conclusion, Summary. The volume of the thesis must not exceed 2,000 characters without spaces. There can be one table or graph.

2.7. Text writing style. Arabic numerals and the International System of Units (SI): kg, g, mg, mmol, m, cm, etc. must be used to indicate weights, dimensions, percentages and degrees. The % sign is used in English text and tables. Use the abbreviation 'proc.' in the Lithuanian text. Indicate the international names of all pharmacological preparations (medicinal products), the group to which they belong and, where appropriate, the trade name and company name in brackets. Abbreviations mentioned for the first time in the text should be explained.

The fractional part of numbers in Lithuanian is separated by a comma (for example, 2,15), in English – by a dot (for example, 2.15).

2.8. Figures (preferably no more than 4-5 figures) are marked in Arabic numerals in sequence and presented in a

separate document from the main text. The title is written below the figure, first marking the sequence number of the figure, e.g., Figure 1. Submit images in an open format (for editing). All numerical or alphanumeric markings in the figure must be clear and of sufficient size (1.5–2 mm).

2.9. Tables. The title of each table must be numbered in Arabic numerals and printed on a separate sheet. Only standard universally understood abbreviations explained below the table should be used. The authors must prepare the material of the tables in an understandable way. In the text, they must be marked as "Table 1", etc.

2.10. Acknowledgements. Acknowledgements are written only to individuals or organizations who were directly involved in or supported the study, both intellectually and materially.

2.11. References. The bibliography is based on the Vancouver system and the Uniform Requirements for Manuscripts of Biomedical Journals (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. JAMA. 1997; 277: 927–34). A maximum of 50 references should be cited, with the exception of scientific reviews and recommendations, a maximum of 100 references; preferably in the last decade. References are listed in the language in which they were published, and in the manuscript, they are indicated in Arabic numerals in square brackets starting with a citation from [1]. Indicate all authors if there are six or fewer. When there are more authors, the first six are listed and "ir kt." (in Lithuanian) or "et al." (in English) is written.

Examples of references:

- **A journal article:**
Johnston LK, Hsu CL, Krier-Burris RA, Chhiba KD, Chien KB, McKenzie A, et al. IL-33 Precedes IL-5 in regulating eosinophil commitment and is required for eosinophil homeostasis. *J Immunol.* 2016; 197(9):3445–53.
- **An article from conferences, congresses:**
Pelosi P. Acute respiratory failure and critical care. In: *Pneumo update Europe 2017, 4th European update congress in pneumology; 2017 June 9–10; Vienna, Austria.*
- **An article from a book:**
Bourbon J, Henrion-Caude A, Gaultier C. Molecular basis of lung development. In: Gibson GJ, Geddes DM, Costable U, Sterk PJ, Corrin B, eds. *Respiratory medicine.* 3rd Edn. Edinburgh/Philadelphia, Elsevier Science, 2002; pp. 64–81.
- **A book:**
Vigneswaran W, Garrity E, Odell J, eds. *Lung transplantation: principles and practice.* 1st ed. Boca Raton, FL: Taylor&Francis Group, LCC; 2015.
- **The internet addresses and other electronic sources:**
WHO. Severe acute respiratory syndrome (SARS). www.who.int/csr/sars/en/index.html. Date last updated: June 1 2004. Date last accessed: June 1 2004.

2.12. Manuscripts for the sections "Scientific Papers and Reviews" and "Scientific Theses" of the journal are submitted by March 1 or 1 August of the current year, other articles - until 15 March or August 1, respectively.

2.13. Electronic forms of the requirements for authors, the review and the copyright confirmation document (the signing of which is equivalent to the submission of the manuscript to the editor) are submitted at <http://www.pulmoalerg.lt>