

# Pulmonologija ir alergologija

Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos leidinys

INDEX COPERNICUS  
INTERNATIONAL QJS  
OPEN ACCESS SYSTEMS

Nuotraukos autorius Andrius Aleksandravičius



PIA

2022 TOMAS 6 Nr. 2

ISSN 2538-7324

Plaučių funkcijos tyrimų interpretacija – naujieji ERS/ATS standartai

Mastocitozė – kas tai?

Eosinophils promote proliferation of pulmonary structural cells by stimulating extracellular matrix production in asthma

„Pulmonologija ir alergologija“ yra oficialus recenzuojamas mokslinis Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos žurnalas, indeksuojamas Index Copernicus International žurnalų pagrindiniame sąrašė (2021 m. indeksas 68,22)

„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 68.22 for 2021)

#### 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

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

### Aktualijos

- 116 Atnaujintos plaučių embolijos diagnostikos, gydymo ir profilaktikos rekomendacijos
- 117 Įspūdžiai iš Barcelonoje vykusio tarptautinio Europos respiratologų draugijos kongreso 2022
- 118 Įspūdžiai iš Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos kongreso Prahoje
- 120 Įspūdžiai iš pirmojo Tarpląstelinio užpildo farmakologijos kongreso Kopenhagoje

### Pulmonologija ir alergologija

- 122 Plaučių funkcijos tyrimų interpretacija – naujieji ERS/ATS standartai
- 129 Mastocitozė – kas tai?
- 138 Churg-Strauss sindromas
- 144 Pleuros mezotelioma

### Disertacijos

- 149 Veiksnių, susijusių su skreplių pasėlio konversija, gydant vaistams jautrią ir atsparią tuberkuliozę, tyrimas
- 158 Eozinofilų poveikis tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiškai, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumui ir migracijai sergant astma

### Moksliniai darbai ir apžvalgos

- 173 Eosinophils promote proliferation of pulmonary structural cells by stimulating extracellular matrix production in asthma
- 183 Alergija retiemis ir egzotiniams gyvūnams
- 191 Kontaktinė alergija augalinės kilmės alergenams: odos lopo mėginių su Europos bazinės serijos alergenais šešerių metų tyrimų analizė

### Farmakoterapija

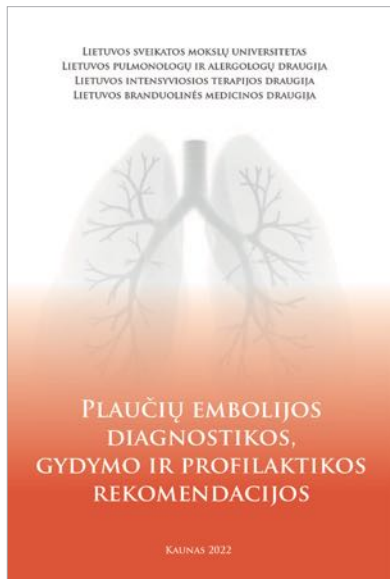
- 198 ROS1 teigiamo nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio gydymo entrektinibu veiksmingumas ir saugumas
- 204 Budezonido, glikopironio ir formoterolio derinio veiksmingumas gydant LOPL
- 208 Nintedanibas veiksmingai lėtina FVC mažėjimą gydant sergančiuosius idiopatine plaučių fibroze, kitomis progresuojančiomis fibrozuojančiomis intersticinėmis plaučių ligomis bei su sisteminė skleroze susijusia intersticine plaučių liga
- 214 LOPL gydymo optimizavimo svarba ir aklidinio / formoterolio veiksmingumas
- 222 Nerezektabilios piktybinės pleuros mezoteliomos pirmaeilis gydymas nivolumabu ir ipilimumabu
- 232 Išplitusio nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio, kuomet nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje, pirmaeilis gydymas pembrolizumabu kartu su chemoterapija
- 238 Bronchų obstrukcijos išnykimas sergantiesiems astma: TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų *post hoc* analizė

### Informacija

- 244 Padėka žurnalo „Pulmonologija ir alergologija“ skilties „Moksliniai darbai ir apžvalgos“ 2022 metų recenzentams
- 245 Reikalavimai autoriams
- 247 Requirements for authors

# Atnaujintos plaučių embolijos diagnostikos, gydymo ir profilaktikos rekomendacijos

SKAIDRIUS MILIAUSKAS  
LSMU MA Pulmonologijos klinika



Nuo 2013 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Pulmonologijos klinikos ir Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos autorių iniciatyva publikuojama mokomoji knyga „Plaučių embolijos diagnostikos, gydymo ir profilaktikos rekomendacijos“. Šiuo metu išleistas jau ketvirtasis atnaujintas šios knygos leidimas. Kaip žinoma, plaučių embolija išlieka didžiulė šiuolaikinės medicinos problema. Po miokardo infarkto ir insulto, venų trombinė embolija yra trečiasis pagal dažnį širdies

ir kraujagyslių sindromas. Negydomų ligonių mirštamumas siekia 30 proc. Laiku nustatius diagnozę ir skyrus tinkamą gydymą antikoaguliantais, mirštamumas gerokai sumažėja ir siekia 2–8 proc. Labai svarbi savalaikė ir adekvati šio susirgimo profilaktika.

Nuo pirmojo šios knygos leidimo, kai buvo suvienodintas ir supaprastintas plaučių embolijos diagnozės formulavimas ir patvirtintas diagnostikos ir gydymo algoritmas, atlikta daug tyrimų bei atsirado naujų papildomų duomenų. Suformuluotas aiškus didelės rizikos plaučių embolijos apibrėžimas, išskirta dešiniojo skilvelio disfunkcijos reikšmė, nurodyta, kada ir kaip turėtų būti vertinama dešiniojo skilvelio funkcija, patikslintos D-dimero koncentracijos normos, atsižvelgiant į amžių ir klinikinę ligos tikimybę. Patvirtinta galimybė dalį sergančiųjų plaučių embolija anksčiau

išrašyti iš stacionaro ir gydyti namuose. Ketvirtajame leidinyje pateikėme daugiau duomenų apie gydymui ir profilaktikai patvirtintus saugesnius ir patogesnius vartoti tiesioginio veikimo geriamuosius antikoaguliantus, kurie veiksmingumu ir ypač saugumu nenusileidžia anksčiau į klinikinę praktiką įtrauktiems ir vartojamiems vaistams. Tiesioginio veikimo geriamieji antikoaguliantai jau rekomenduojami kaip pirmojo pasirinkimo vaistai venų trombinei embolijai gydyti. Mes siūlome šių vaistų nebevadinti „naujaisiais“, nes jie vartojami jau daugiau kaip dešimtmetį. Tiesioginio veikimo geriamuosius antikoaguliantus galima saugiai skirti sergant vėžiu. Jau yra sukurti ir patvirtinti veiksmingi antidotai, kurie gali būti skiriami šių vaistų perdozavus. Naujausioje mokomojoje knygoje taip pat aptarėme, kaip gydyti ir taikyti venų trombinės embolijos profilaktiką nutukusiems asmenims. Taip pat pateikėme informaciją apie naujas plaučių embolijos intervencinio gydymo galimybes. Atsakėme į skaitytojų nuolatinį klausimą – kaip vartoti antikoaguliantus numatant įvairiausias operacijas arba intervencijas, pabrėžėme, kada vaistų skyrimą nutraukti ir kada juos atnaujinti. Pateikėme naujausias rekomendacijas, kaip diagnozuoti ir gydyti plaučių emboliją, atsiradusią sergant sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronaviruso-2 (SARS-CoV-2) sukelta liga COVID-19.

Labai ačiū už pastabas ir vertingus patarimus recenzentams doc. Giedrei Bakšytei ir doc. Gintautui Gumbrevičiui. Autoriai tikisi, kad ši knyga bus vertinga ne tik praktikuojantiems gydytojams ir gydytojams rezidentams, bet ir medicinos studentams.

# Įspūdžiai iš Barselonoje vykusio tarptautinio Europos respiratologų draugijos kongreso 2022

IEVA DIMIENĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

Šių metų rugsėjo 4–6 d. Barselonoje (Ispanija) po trejų metų pertraukos įvyko hibridinis Europos respiratologų draugijos tarptautinis kongresas 2022 (angl. *European Respiratory Society (ERS) International Congress 2022*). Tai renginys, suburiantis kvėpavimo sistemos ligų srityje dirbančius sveikatos priežiūros specialistus, mokslininkus, farmacijos ir technologijų kompanijų atstovus. Šiame kongrese dalyvavo apie 19 000 delegatų, per jį įvyko daugiau nei 400 sesijų, pristatyta daugiau nei 3 500 pranešimų su naujausiais mokslinių ir klinikinių tyrimų duomenimis.

Per renginį vykusiose sesijose puikiai pasirodė Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) Medicinos akademijos Pulmonologijos klinikos dėstytojai, doktorantai, mokslo darbuotojai. Pristatyta net dešimt jų parengtų mokslinių pranešimų krūtinės ląstos onkologijos, obstrukcinės miego apnėjos, astmos, plaučių tuberkuliozės ir retų ligų temomis. Per kongresą taip pat pristatytas SHARP registro (angl. *Severe Heterogeneous Asthma Registry, Patient-centered*) klinikinis tyrimas UNISA, kurio metu buvo vertintas vienerių metų mepolizumabo efektyvumas skirtingose Europos šalyse. Jo tyrėjomis buvo ir LSMU MA Pulmonologijos klinikos Sunkios astmos centro gydytojos doc. dr. K. Biekšienė ir dr. V. Kalinauskaitė-Žukauskė.

Per ERS kongresą nacionalinių draugijų stende dalyviai turėjo galimybę susipažinti su Lietuvos pulmonologų ir alergologų draugijos (LPAD) vizija ir veikla, recenzuojamu žurnalu „Pulmonologija ir alergologija“. Tikimės, kad galimybė publikuoti straipsnius šiame leidinyje sudomins ne tik Lietuvos, bet ir užsienio tyrėjus.

Džiaugiamės, jog po ilgai trukusios COVID-19 pandemijos ir vėl turėjome galimybę susitikti ir diskutuoti mums įdomiais klausimais su kolegomis iš užsienio ir kvėpavimo sistemos ligų srities autoritetais.



LSMU MA Pulmonologijos klinikos gydytojai ERS tarptautiniame kongrese 2022



Pranešimus astmos srityje pristatė LSMU MA Pulmonologijos klinikos ir Pulmonologijos laboratorijos mokslo darbuotojai ir doktorantai (iš kairės): jaunesioji mokslo darbuotoja Eglė Jurkevičiūtė, dokt. Airidas Rimkūnas, dokt. Jolita Palačionytė, dr. Andrius Januškevičius.

Neabejojame, kad iš kongreso dalyviai grįžo įgyję naujų žinių ir motyvacijos ateities darbams tiek klinikinėje praktikoje, tiek mokslinėje veikloje.

# Įspūdžiai iš Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos kongreso Prahoje

JUSTINA ŠEMATONYTĖ, IEVA BAJORIŪNIENĖ  
LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika



2022 m. liepos 1–3 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Imunologijos ir alergologijos klinikos atstovės dalyvavo kasmetiniame Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos (angl. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, EAACI) kongrese Prahoje (Čekijos Respublika). Kaip ir pernai, kongresas buvo lankstus – hibridinis. Kongreso dalyviai turėjo galimybę dalyvauti renginyje tiek virtualiai, tiek lankyti kontaktinėse paskaitose ir klausytis žodinių pranešimų šimto bokštų mieste – Prahoje.

Šių metų kongreso tikslas – vienas požiūris į sveikatą (angl. *One Health Approach*). Šiuolaikinėje medicinoje vis labiau atkreipiamas dėmesys, kad mūsų aplinka, gyvūnų ir augalų sveikata yra glaudžiai susijusi su žmonių sveikata. Per kongresą kalbėta apie rizikos veiksnius, sąlygojančius žmonių ir kitų žinduolių alerginių ligų vystymąsi, trukmę ir klinikinių požymių sunkumą. Plačiai aptarti visuotinio atšilimo, klimato kaitos ir oro taršos padariniai, žiedadulkių žydėjimo sezonų pokyčiai, alergenu molekuliniai pokyčiai dėl CO<sub>2</sub> ir ozono. Didelis dėmesys skirtas maisto gamybos pramonei ir industrijai. Maisto produktų sudėtis ir jų perdirbimas, mitybos įpročiai, asmeninė kūno higiena, vandens tarša, gyvūnų vartojami antibiotikai ir rūgštingumą slopinamieji vaistai, epitelio barjero hipotezė – dažnai pamirštami, bet labai svarbūs

veiksniai alerginių ligų vystymuisi. Todėl, norint sėkmingai plėtoti alerginių ligų profilaktikos programas, būtinas gerai koordinuotas požiūris į tiek su žmonėmis, tiek su gyvūnais susijusius aspektus. Reikalingos bendros pastangos ir bendradarbiavimas tarp medicinos mokslo ir klinikinės praktikos darbuotojų, vyriausybinių įstaigų, maisto pramonės ir, žinoma, pacientų. Ši nauja vieno požiūrio į sveikatą perspektyva gali atverti visiškai naują požiūrį į alergines ligas ir jų kasdienę profilaktiką.

Kaip ir kasmet, Kauno klinikų Imunologijos ir alergologijos klinikos atstovės buvo aktyvios minėtame renginyje. Dr. Edita Gasiūnienė papasakojo apie Pirminių imunodeficitų centro veiklą ir kartu su dr. Ieva Bajoriūniene pasidalijo patirtimi, įgyta gydant sergantįjį paveldima angioedema (pristatymo tema angl. *Acute Pancreatitis Due to Attack of Hereditary Angioedema*). Taip pat pristatytas retas klinikinis atvejis, kuomet Kauno klinikų sergančiajai migrena buvo patvirtintos lėtojo tipo padidėjusio jautrumo reakcijos į monokloninę antikūną migreninių skausmų profilaktikai – fremanezumą (pristatymo tema angl. *Confirmed Non-immediate Hypersensitivity to Fremanezumab*) (dr. E. Gasiūnienė, prof. Brigita Šitkauskienė). Doktorantė Laura Tamašauskienė aptarė *Staphylococcus aureus* kolonizacijos reikšmę ir dažnį sergantiesiems nuolatiniu alerginiu rinitu (pristatymo tema angl. *Inflammatory*

*Markers in Patients With Colonization by Staphylococcus aureus and Having Allergic Airway diseases*, mokslinė vadovė prof. B. Šitkauskienė, bendraautorė dr. Viltė Marija Gintauskienė). Bendradarbiaudamos su vaikų gydytojais onkologais ir hematologais gydytojos Simona Kašinskaitė ir Justina Sematonytė kartu su prof. B. Šitkauskiene pristatė sėkmingos metotreksato desensibilizacijos klinikinį atvejį apie pediatriinio amžiaus sergantį osteosarkoma (pristatymo tema angl. *Clinical Case of Successful Desensitization to High-Dose Methotrexate in a Pediatric Patient With Osteosarcoma*, bendraautorai: Giedrė Rutkauskienė, Mantas Simutis). Imunologijos mokslinės laboratorijos jaunieji mokslininkai taip pat supažindino kongreso bendruomenę su laboratorijos galimybėmis ir atliekamais moksliniais tyrimais. Doktorantė Daina Bastytė pristatė tyrimo, kuriame vertinti vitamino D receptorių ir surišamojo baltymo geno polimorfizmai sergant astma ir alerginėmis ligomis, rezultatus (angl. *Vitamin D Receptor and Vitamin D Binding*

*Protein Gene Polymorphisms in Asthma and Atopy*, bendraautorai: L. Tamašauskienė, Ieva Golubickaitė, prof. Rasa Ugenskienė, prof. B. Šitkauskienė). Jaunoji mokslininkė Rebeka Žebrauskaitė pristatė savo tyrimą, analizuojantį monocitų ir granulocitų funkciją pacientams su įtariamu fagocitų funkcijos sutrikimu (angl. *Evaluation of Monocyte and Granulocyte Function in Patients With Suspected Phagocytic Dysfunction*, bendraautorai: dr. V. M. Gintauskienė, Dovydas Bagdonas, prof. B. Šitkauskienė). Džiugu, kad visi pranešimai buvo informatyvūs ir aktualūs kongreso kontekste.

Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos kongresas Prahoje buvo įsimintinas renginys tiek tiesiogiai dalyvavusiems asmenims, tiek virtualiosios platformos žiūrovams. 2022 m. Europos kongreso mokslinė programa išliko prieinama kongreso internetinėje platformoje ir yra ne tik vertinga siekiant atnaujinti teorines žinias, bet ir naudinga kasdienėje daugelio medicinos sričių gydytojų praktikoje.



## Įspūdžiai iš pirmojo Tarpląstelinio užpildo farmakologijos kongreso Kopenhagoje

AIRIDAS RIMKŪNAS

LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija

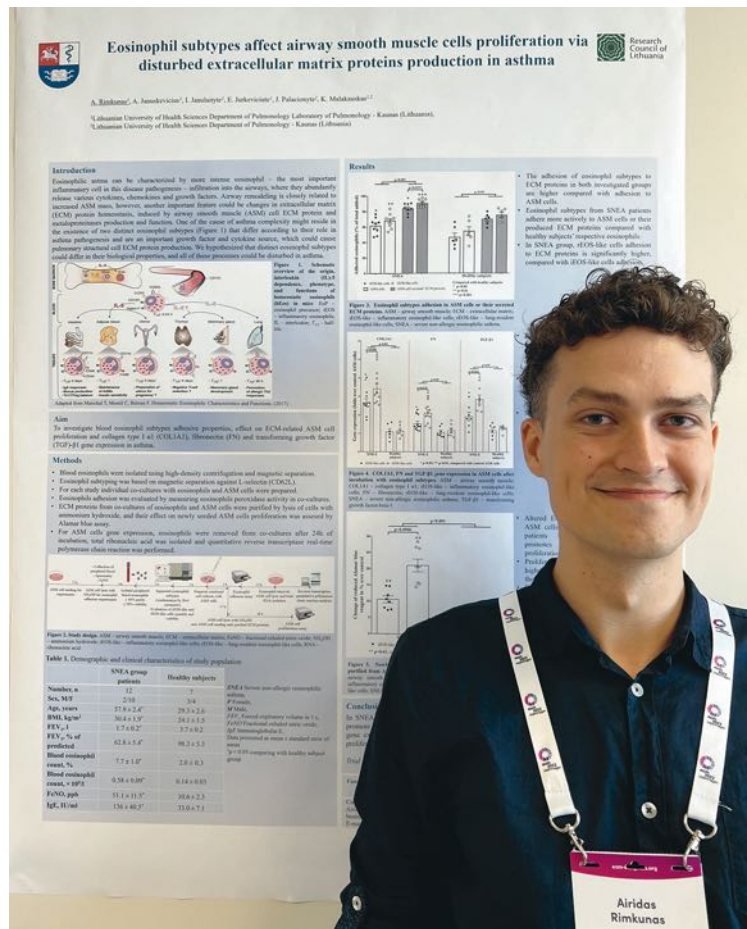
2022 m. birželio 23–25 d. Kopenhagoje, Danijoje vyko pirmasis Tarpląstelinio užpildo farmakologijos kongresas (angl. *Extracellular Matrix Pharmacology Congress*, ECM2022), organizuotas Danijos tyrimų fondo (angl. *Danish Research Foundation*). ECM2022 subūrė įvairių organų ligų ekspertus: kepenų, plaučių, inkstų, odos, širdies ir kraujagyslių, vėžio (naviko fibrozės) ir imunologijos, kurių bendrasis vardiklis yra tarpląstelinis užpildas. Pirmojo kongreso tikslas buvo sutelkti dėmesį į naujų vaistų, skirtų tarpląsteliniam užpildui, kūrimą, ir pagerinti supratimą apie tarpląstelinio

užpildo pokyčius sergant lėtinėmis ligomis. Pagrindinis ECM2022 kongreso organizatorius prof. Morten Karsdal tikisi, kad ši konferencija taps kasmetiniu renginiu, kuris pritrauks ikiklinikinių ir klinikinių biožymenų tyrimus ir mokslinius tyrimus iš įvairių tarpląstelinio užpildo biologijos aspektų. ECM2022 kongrese kalbėjo tarptautiniai tarpląstelinio užpildo ekspertai: Valerie Weaver iš Kalifornijos universiteto Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV), Raghu Kalluri iš Teksaso universiteto MD Andersono vėžio centro JAV, Arantxa González Miqueo iš Navaros universiteto



Akimirkos iš pirmojo Tarpląstelinio užpildo farmakologijos kongreso

Ispanijoje, Mina Bissell iš Berklio nacionalinės laboratorijos JAV, Richard Olding Hynes iš Masačusetso technologijos instituto JAV ir Detlef Schuppan iš Johano Gutenbergo universiteto Vokietijoje. Kongreso lektoriai – tai žinomi mokslininkai, įsigilinę į tarpląstelinio užpildo reikšmę ir pokyčius įvairių ligų kontekste. Konferencijos programa dinamiška – pradedant teorijos paskaitomis ir naujausių tyrimų apžvalgomis, tęsiant kiekvienos dienos popietėje pristatytais jaunųjų tyrėjų žodiniais ir stendiniais pranešimais pagal įvairias temas ir vykdytomis atviromis mokslinėmis diskusijomis. Stendinių pranešimų sesija sudarė 113 pranešimų, kurių vienas buvo Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorijos jaunesniojo mokslo darbuotojo Airido Rimkūno pranešimas apie eozinofilų potipių įtaką kvėpavimo takų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijai, esant sutrikusiai tarpląstelinio užpildo baltymų gamybai sergant astma, angl. *Eosinophil Subtypes Affect Airway Smooth Muscle Cells Proliferation via Disturbed Extracellular Matrix Proteins Production in Asthma*. Konferencijoje pristatyti rezultatai, gauti vykdant projektą, kurio finansavimą skyrė Lietuvos mokslo taryba, sutarties Nr. S-MIP-21-17. Pagrindinis tyrimo tikslas buvo įvertinti eozinofilų potipių adhezinės savybės, pirmojo tipo alfa-1 kolageno (COL1A1), fibronektino (FN) ir transformuojamojo augimo faktoriaus TGF-β1 genų raišką bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir tarpląstelinio užpildo poveikį šių ląstelių proliferacijai sergant astma. Nustatyta, kad sergančiųjų sunkia eozinofiline astma eozinofilų potipiai, ypač



**LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorijos jaunesnysis mokslo darbuotojas Airidas Rimkūnas prie stendinio pranešimo pirmajame Tarpląstelinio užpildo farmakologijos kongrese**

į plaučių rezidentinius eozinofilus panašios ląstelės (EOSrez), pasižymi intensyvesnėmis adhezinėmis savybėmis, didina COL1A1, FN ir TGF-β1 raišką bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse, o tarpląstelinio užpildo komponentai, išgryninti po inkubacijos su EOSrez, intensyviau skatina naujųjų bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją.



## Plaučių funkcijos tyrimų interpretacija – naujieji ERS/ATS standartai

INTERPRETATION OF PULMONARY FUNCTION TESTS – THE NEW ERS/ATS STANDARDS

KĘSTUTIS MALAKAUSKAS  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Šioje apžvalgoje pateikiami atnaujinti 2022 m. ERS/ATS plaučių funkcijos tyrimų interpretacijos standartai. Aptariamoms sveikos populiacijos norminės lygtys ir normos ribos, bronchų plėtimo mėginio vertinimas. Pateikiami spirometrijos, plaučių tūrių ir dujų difuzijos tyrimų interpretacijos algoritmai.

**Reikšminiai žodžiai:** plaučių funkcija, norminės lygtys, interpretacija, spirometrija, bronchų plėtimo mėginys, plaučių tūriai, dujų difuzija.

**Summary.** This review provides updated 2022 ERS/ATS standards for the interpretation of pulmonary function tests. Reference equations, lower and upper limits of normal for a healthy population, bronchodilator responsiveness testing are discussed. Algorithms for the interpretation of spirometry, lung volumes and gas diffusion tests are presented.

**Keywords:** pulmonary function, reference equations, interpretation, spirometry, bronchodilator responsiveness testing, lung volumes, gas diffusion.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1013>

### IVADAS

2005 m. Amerikos krūtinės draugijos (angl. *American Thoracic Society*, ATS) ir Europos kvėpavimo draugijos (angl. *European Respiratory Society*, ERS) darbo grupė parengė plaučių funkcijos tyrimų interpretacijos strategiją [1]. Dabartinėje apžvalgoje pateikiami atnaujinti 2022 m. ERS/ATS plaučių funkcijos tyrimų interpretacijos standartai [2]. Šiuose standartuose pagrindinis dėmesys skiriamas plaučių funkcijos tyrimų interpretacijai.

### NORMINĖS LYGTYS

Plaučių funkcijos tyrimai atspindi fiziologines plaučių savybes, siekiant diagnozuoti plaučių ligas, paaiškinti dusulio priežastis, stebėti ligos vystymąsi ir gydymo atsaką. Tam, kad būtų galima teisingai interpretuoti tyrimų rezultatus, kartu su kokybiškai atliktais tyrimais reikia naudoti tinkamas išmatuotų dydžių normines lygtis. Atnaujintuose ERS/ATS standartuose **rekomenduojama naudoti Pasaulinės plaučių funkcijos iniciatyvos (angl. *Global lung function initiative*, GLI) spirometrijos, plaučių tūrių ir dujų difuzijos (plaučių difuzinės gebos anglies monoksido,  $D_{LCO}$ ) normines lygtis** [3–5]. GLI norminės lygtys sudaro vieną plaučių funkcijos tyrimų lygčių rinkinį, leidžiantį išvengti prieštarų rezultatų tarp atskirų plaučių funkcijos tyrimų ir galimos klaidingos fiziologinių procesų interpretacijos. Šios lygtys pritaikytos visų amžiaus grupių asmenims – nuo 3 iki 95 metų. Atkreiptinas dėmesys, kad iki šiol dar naudojamų

Europos plieno ir anglies bendrijos (angl. *European Community for Steel and Coal*, ECSC) norminių lygčių apskaičiuotų rodiklių vertės yra mažesnės už GLI lygčių vertes.

### NORMOS RIBOS

Nerekomenduojama rodiklių vertėms taikyti 80 proc. norminio dydžio, o forsuito iškvėpimo tūrio per pirmąją sekundę ( $FEV_1$ )/forsuotos gyvybinės talpos (FVC) santykio 0,70 kaip apatinės normos ribos (ANR), nes šiais atvejais neatsižvelgiama į su amžiumi susijusius rodiklių pokyčius [6, 7]. Pavyzdžiui,  $FEV_1$ /FVC 0,70 tik apytiksliai tinka ANR vidutinio amžiaus asmenims (apie 40 metų), bet yra klaidingas jaunesnio ir vyresnio amžiaus žmonėms.

**Nustatant išmatuoto rodiklio normą rekomenduojama naudoti 5-jį ir 95-jį procentilį (–1,645 ir +1,645 z reikšmės), atitinkamai nustatant apatinę ir viršutinę normos ribą (VNR).** Procentilių ribos yra standartizuotas metodas, skirtas nustatyti vertėms, kurios nepatenka į sveikos populiacijos laukiamų rezultatų diapazoną. Z reikšmės parodo, kiek tiriama plaučių funkcijos rodiklio vertė yra nutolusi nuo norminės vertės, atsižvelgiant į lytį, amžių, ūgį ir etninę grupę, išreikštą standartiniais nuokrypiais. Kadangi spirometrijoje tik žemos rodiklių vertės laikomos nenormaliomis, naudojant 5 procentilį kaip ANR pripažįstama, kad 5 proc. sveikų asmenų bus klaidingai teigiami rezultatai, t. y. netiksliai vertinami kaip turintys nenormalų rezultatą. 5-asis procentilis parodo kompromisą tarp

netaisyklingai įvertintos sveiko asmens mažos vertės ir kliniškai reikšmingo plaučių funkcijos sumažėjimo (t. y. padidėjusio jautrumo ir mažesnio specifiškumo, palyginti su mažesnio procentilio naudojimu). Atliekant tyrimus, kurių rezultatai gali būti ir per maži, ir per dideli (pvz., plaučių tūrių arba dujų difuzijos tyrimai), klaidingų teigiamų rezultatų tikimybė padidėja iki 10 proc. Atkreiptinas dėmesys, kad nukrypimai nuo normos nebūtinai rodo patofiziologinį sutrikimą ir kliniškai reikšmingą ribą ligai diagnozuoti. Ir atvirkščiai, rezultatas, atitinkantis tiriamojo normą, neatmeta ligos, pažeidžiančios plaučių funkciją, galimybės – pvz., rodiklio sumažėjimas nuo 95 procentilio iki 10 procentilio yra labai reikšmingas pokytis, bet plaučių funkcija vis tiek išlieka normos ribose. Todėl ribiniai rezultatai turi būti interpretuojami atsargiai, atsižvelgiant į tiriamojo ligos istoriją, fizinius duomenis ir ligos tikimybę prieš tyrimą. Nerekomenduotina pasikliauti vien tik tyrimų rezultatų skaitmenine išraiška. Idealiu atveju norma turėtų būti pagrįsta individo iki ligos išmatuota arba pradine verte.

## PLAUČIŲ FUNKCIJOS SUTRIKIMO SUNKUMAS

Anksčiau buvo rekomenduojama bet kokių spirometrinių ventiliacijos sutrikimų sunkumą vertinti pagal  $FEV_1$  vertę, išreikštą norminio dydžio procentais. 2005 m. ATS/ERS plaučių funkcijos tyrimų interpretacijos strategijoje [1] buvo išskirti penki sunkumo lygiai, tam naudotos 70 proc., 60 proc., 50 proc. ir 35 proc. ribos. Deja, toks skirstymas netikslus esant skirtingam tiriamųjų amžiui. Todėl, atsižvelgiant į asmens lytį, ūgį, amžių, etninę kilmę, taip pat mirties riziką, 2022 m. ERS/ATS standartuose visiems plaučių funkcijos rodikliams įvertinti rekomenduojama taikyti tris sunkumo laipsnius pagal  $z$  reikšmes [2]:

- **Norma:**  $> -1,645$ .
- **Lengvas sutrikimas:** nuo  $-1,65$  iki  $-2,5$ .
- **Vidutinio sunkumo sutrikimas:** nuo  $-2,51$  iki  $-4,0$ .
- **Sunkus sutrikimas:**  $< -4,1$ .

Svarbu pažymėti, kad plaučių funkcijos sutrikimo sunkumas nebūtinai atitinka ligos sunkumą, kuris apima gyvenimo kokybę, funkcinis sutrikimus, radiologinius pokyčius ir kt.

## FIZIOLOGINIŲ SUTRIKIMŲ KLASIFIKACIJA

Interpretuojant plaučių funkcijos tyrimų rezultatus, pagrindinis tikslas yra nustatyti sutrikimų pobūdį. Vien tik plaučių funkcijos tyrimais neturi būti naudojamos konkrečiai patologinei būklei diagnozuoti. Plaučių funkcijos tyrimų rezultatų interpretacija turi būti aiški ir informatyvi, kad padėtų suprasti, ar gautas rezultatas yra normalus, o jei ne – koks fiziologinis sutrikimas gali būti susijęs. Be to, norint nustatyti kliniškai reikšmingus nukrypimus nuo ankstesnių

tiriamojo rezultatų, svarbūs yra kartotiniai plaučių funkcijos tyrimų vertinimai.

Įprasti plaučių funkcijos tyrimai vertina tris funkcines plaučių savybes: 1) oro srautą (įkvėpimo ir iškvėpimo); 2) plaučių tūrius ir talpas (bendrąją plaučių talpą (TLC), liekamąjį tūrį (RV), funkcinę liekamąją talpą (FRC)) ir 3) dujų difuziją ( $D_{LCO}$ ). Šių trijų funkcinių savybių sutrikimai paprastai klasifikuojami kaip obstrukcinis arba restrikcinis ventiliacijos bei dujų difuzijos:

- 1) **Obstrukcinis ventiliacijos sutrikimas** – tai kvėpavimo takų susiaurėjimas dėl obstrukcijos arba dinaminio kvėpavimo takų kolapso. Proksimalinių kvėpavimo takų savybės lemia oro srauto pasipriešinimą, esant dideliems plaučių tūriams, ir  $FEV_1/FVC$  sumažėjimą; distalinių kvėpavimo takų savybės lemia oro srauto pasipriešinimą, esant nedideliame plaučių tūriui, ir mažina pasakosnį oro srautą visiškai iškvėpant. Kadangi dėl kvėpavimo takų obstrukcijos sutrinka oro šalinimas iš plaučių, ją dažnai lydi oro spūstai ir hiperinflacija, dėl ko gali sumažėti FVC. Tai vertinama RV matavimu.
- 2) **Restrikcinis ventiliacijos sutrikimas** – tai plaučių dydžio sumažėjimas. Gali pasireikšti dėl plaučių parenchimos pažeidimo arba negebėjimo pilnai įkvėpti dėl ekstrapulmoninių veiksnių (pvz., tiriamojo silpnumo, krūtinės ląstos anomalijų, nutukimo). Plaučių restrikcija sumažina  $FEV_1$ , FVC (bet ne  $FEV_1/FVC$ ) ir TLC.
- 3) **Dujų difuzijos sutrikimas** – tai sumažėjęs dujų pernešimas (anglies monoksidas naudojamas kaip deguonies pakaitalas) tarp alveolių oro ir alveolių kapiliarinio kraujo. Tai gali būti dėl sumažėjusio alveolių paviršiaus ploto, sutrikusių alveolių-kapiliarų membranų savybių arba sumažėjusio plaučių kapiliarinio kraujo (hemoglobino) tūrio. Dujų difuzija paprastai vertinama tiriant  $D_{LCO}$ .

## Ventiliacijos sutrikimai, nustatomi spirometrijos metu

Iškvėpimo oro srautas paprastai vertinamas spirometriniu tyrimu, o svarbiausi rodikliai yra  $FEV_1$ , FVC ir  $FEV_1/FVC$ . Didžiausią oro srautą gali riboti įvairios tiriamojo būklės arba ligos:

- 1) Sutrikusi iškvėpimo raumenų funkcija (tiriamojo silpnumas arba nepakankamos pastangos; nervų-raumenų ligos), sumažėjusi plaučių audinio elastinė atotampa arba sumažėjęs krūtinės sienos išsiplėtimas, dėl ko sumažėja didžiausias iškvėpimo srautas (PEF),  $FEV_1$  ir FVC, esant įvairiam  $FEV_1/FVC$ .
- 2) Centrinų kvėpavimo takų (trachėjos, pagrindinių bronchų) obstrukcija, sukelianti neproporcingą PEF sumažėjimą, palyginus su  $FEV_1$ , esant įvairiam  $FEV_1/FVC$ .

# Pulmonologija ir alergologija

- 3) Intrapulmoninė bronchų obstrukcija, kurią sukelia kvėpavimo takų kolapsas, bronchų konstrikcija arba kvėpavimo takų susiaurėjimas dėl uždegimo, sienelių sustorėjimo ir (arba) edemos. Pastaruoju atveju vartojamas terminas „obstrukcija“, siekiant nurodyti pataloginį oro srauto sumažėjimą dėl plaučių pažeidimo. PEF ir FEV<sub>1</sub> sumažėja labiau nei FVC, todėl FEV<sub>1</sub>/FVC yra mažas.

## Obstrukcija

**Obstrukcinis ventiliacijos sutrikimas nustatomas, kuomet FEV<sub>1</sub>/FVC (arba FEV<sub>1</sub>/gyvybinė talpa (VC)) yra mažiau nei ANR, kuri apibrėžiama kaip 5-asis norminio dydžio procentilis.** 2005 m. ATS/ERS interpretacijos standartuose buvo rekomenduojama naudoti FEV<sub>1</sub>/VC (kai VC yra didžiausia lėtos gyvybinės talpos (SVC) arba FVC vertė [1]). Ir nors FEV<sub>1</sub>/VC naudojimas obstrukcijai nustatyti gali būti jautresnis, bet yra ne toks specifiškas, lyginant su FEV<sub>1</sub>/FVC [8]. Be to, FVC registravimą lengviau standartizuoti, nes FVC ir FEV<sub>1</sub>/FVC registruojami forsuito iškvėpimo manevro metu, o SVC – atskirai. Taip pat svarbu, kad norminės lygtys yra apskaičiuotos FEV<sub>1</sub>/FVC, bet ne FEV<sub>1</sub>/VC.

Siekiant kiekybiškai įvertinti smulkiųjų kvėpavimo takų funkcijos sutrikimus, ypač kai FEV<sub>1</sub> ir FEV<sub>1</sub>/FVC yra normalūs, buvo vertinamas vidutinis srautas tarp 25 ir 75 procentų FVC (FEF<sub>25-75 proc.</sub>). Pasirodė, kad forsuito iškvėpimo metu FEF<sub>25-75 proc.</sub> matavimai labai kinta, pasižymi blogu atkuriamumu ir nėra specifiški asmenims su smulkiųjų kvėpavimo takų pažeidimu. Todėl šiuo metu nėra pakankamų įrodymų, rekomenduojančių spirometrijos atlikimą izoliuotai smulkiųjų bronchų disfunkcijai nustatyti [2].

Asmenims, kuriems būdingos ankstyvosios plaučių ligos apraiškos, ypač vaikams, spirometrijos rodiklių vertės gali būti normalios (net ir tiems, kuriems liga patvirtinta). Vertinant ventiliacijos sutrikimus, kiti plaučių funkcijos tyrimai gali papildyti spirometriją. Pavyzdžiui, kvėpavimo takų pasipriešinimas (R<sub>aw</sub>), išmatuotas atliekant kūno pletizmografią, ir su tūriu susijęs specifinis R<sub>aw</sub> (sR<sub>aw</sub>) arba specifinis kvėpavimo takų laidumas (sG<sub>aw</sub>). Šie rodikliai yra jautresni, kai siekiama nustatyti ekstratorakalinių arba stambųjų intratorakalinių kvėpavimo takų susiaurėjimą, nei periferinių kvėpavimo takų. Kvėpavimo sistemos pasipriešinimo matavimai, taikant neinvazinius metodus, tokius kaip oscilometrija, kurių atlikimui reikalingas tik ramus kvėpavimas, gali

būti naudingi asmenims, kurie negali atlikti forsuito iškvėpimo manevro, įskaitant mažus vaikus.

## Restrikcija

Kai FEV<sub>1</sub>/FVC yra normalus arba padidėjęs, sumažėjęs FVC leidžia įtarti restrikciją, bet jos neįrodo. Reikia ištirti plaučių tūrius ir talpas. Tačiau normalus FVC paprastai ekskliuduoja restrikciją [10].

## Mišrus sutrikimas

Mišrų sutrikimą galima įtarti, jei FEV<sub>1</sub>/FVC ir FVC yra sumažėję. Tačiau FVC gali būti sumažėjęs tiek dėl obstrukcijos, tiek dėl restrikcijos, todėl restrikcijos komponento egzistavimo negalima įvertinti vien tik iš FEV<sub>1</sub> ir FVC matavimų. Tikslinga ištirti plaučių tūrius ir talpas.

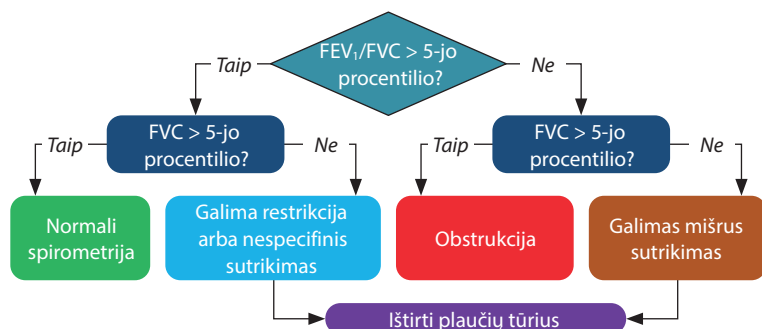
## Disanapsis

Asmenims, kuriems yra sumažėjęs FEV<sub>1</sub>/FVC bet normalus FEV<sub>1</sub>, šių radinių klinikinė reikšmė nėra visiškai aiški. Dažniau nustatoma sveikiems, jauniems, aukšties vyrams, esant padidėjusiai FVC ir forsuito iškvėpimo srautui, iškvėpus 75 proc. FVC (FEF<sub>75 proc.</sub>). Tai gali būti dėl disanaptinio (neproporcingo) kvėpavimo takų ir plaučių parenchimos augimo [11]. Greta

**1 lentelė. Spirometrijos metu nustatomi ventiliacijos sutrikimai**

Sutrikimas	FEV <sub>1</sub>	FVC	FEV <sub>1</sub> /FVC	Pastabos
Obstrukcija	N/↓	N	↓	
Restrikcija	↓	↓	N/↑	Patvirtinimui įvertinti TLC, kuri turi būti ↓
Nespecifinis sutrikimas	↓	↓	N	TLC normali; tikslingi papildomi tyrimai, tokie kaip bronchų plėtimo mėginys, plaučių tūrių, kvėpavimo takų pasipriešinimo matavimas
Raumenų silpnumas	↓	↓	N	Forsuito iškvėpimo kreivė nėra smaili
Nepakankamos pastangos	↓	↓	N	Forsuito iškvėpimo kreivė nėra smaili
Mišrus sutrikimas	↓	↓	↓	Patvirtinimui tirti plaučių tūrius
Disanapsis	N	N/↑	↓	Galimas normos variantas

FEV<sub>1</sub> – forsuito iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FVC – forsuita gyvybinė talpa; N – normalus; TLC – bendroji plaučių talpa.



**1 pav. Spirometrijos interpretacijos algoritmas [2]**

FEV<sub>1</sub> – forsuito iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FVC – forsuita gyvybinė talpa.

normalaus FEV<sub>1</sub> ir sumažėjusio FEV<sub>1</sub>/FVC gali būti nustatoma didelė FVC su sumažėjusiu RV. Nors manoma, kad tai gali būti normalus fiziologinis variantas, nauji duomenys rodo, kad šis fenomenas gali būti susijęs su polinkiu ateityje sirgti obstrukcine plaučių liga. Todėl individualiai sprendžiama dėl papildomų tyrimų, tokių kaip bronchų plėtimo mėginys, dujų difuzija ir kiti tyrimai.

## Nespecifinis sutrikimas

Sutrikimas, kuomet FVC ir (arba) FEV<sub>1</sub> yra sumažėję, o FEV<sub>1</sub>/FVC ir TLC yra normalūs, vadinamas nespecifiniu [12, 13]. Buvo manoma, kad nespecifinis sutrikimas yra susijęs su kvėpavimo takų obstrukcija arba kolapsu. Iš tiesų, nespecifinis sutrikimas gali atspindėti sumažėjusias tiriamojo pastangas (įkvepiant arba iškvepiant), restrikciją (gali būti ankstyvasis restrikcijos požymis, kai FVC sumažėjimas dar nesusijęs su RV sumažėjimu) arba būti ankstyvasis smulkiųjų kvėpavimo takų ligos su oro spąstų fenomenu ir (arba) emfizema pasireiškimas (dėl kolapso sumažėja FVC ir padidėja RV, išliekant dar normaliam FEV<sub>1</sub>/FVC). Nustačius nespecifinį sutrikimą, tikslinga atlikti bronchų plėtimo mėginį. Žymus FEV<sub>1</sub> ir (arba) FVC padidėjimas gali rodyti tam tikro laipsnio bronchų atsaką. Taip pat galima palyginti FVC su SVC. Jei SVC yra žymiai didesnė nei FVC (> 100 ml), tai leidžia įtarti forsuoto iškvėpimo metu įvykstantį kvėpavimo takų kolapsą.

1 lentelėje ir 1 paveiksle pateikiami spirometrijos metu nustatomi ventiliacijos sutrikimai bei spirometrijos interpretacijos algoritmas.

## Centrinių ir viršutinių kvėpavimo takų obstrukcija

Centrinių ir viršutinių kvėpavimo takų obstrukcija išsivysto už plaučių parenchimos ribų. Tai gali atsirasti intratorakaliniuose kvėpavimo takuose (intratorakalinėje trachėjos dalyje ir pagrindiniuose bronchuose) arba ekstratorakaliniuose kvėpavimo takuose (ryklėje, gerklose ir ekstratorakalinėje trachėjos dalyje). Ankstyvosiose pažeidimo stadijose FEV<sub>1</sub> ir (arba) FVC gali nepakisti, bet PEF pastebimai sumažėja. 2 lentelėje pateikiami rodikliai gali padėti atskirti intratorakalinę ir ekstratorakalinę kvėpavimo takų obstrukciją. Padidėjęs FEV<sub>1</sub> (ml) ir PEF (l/min.) santykis gali įspėti gydytoją, kad reikia atlikti įkvėpimo ir iškvėpimo srauto-tūrio kreivės vertinimą. FEV<sub>1</sub>/PEF santykis > 8 ml/l/min. suaugusiesiems rodo centrinių arba viršutinių kvėpavimo takų obstrukciją. Nepakankamos tiriamojo pastangos taip pat gali turėti įtakos šių rodiklių santykiui. Svarbu tai, kad besivystanti sunki viršutinių kvėpavimo takų obstrukcija galiausiai sumažina FEV<sub>1</sub> ir FEV<sub>1</sub>/FVC (VC). Pažymėtina, kad iškvėpimo srauto-tūrio kreivės vizualus vertinimas gali būti labai naudingas norint nustatyti viršutinių kvėpavimo takų obstrukciją. Tačiau klasikinių centrinių kvėpavimo takų obstrukcijos spirometrinių

pokyčių nebuvimas nepaneigia galimos patologijos. Todėl, esant įtarimui, tikslingas endoskopinis arba radiologinis kvėpavimo takų ištyrimas.

## Bronchų plėtimo mėginys

Esant klinikinėms indikacijoms, bronchų plėtimo mėginis įvertinamas plaučių funkcijos pokytis po bronchų plečiamojo vaisto pavartojimo. Bronchų plėtimo mėginio rezultatas atspindi integruotą kvėpavimo takų epitelio, nervų, mediatorių ir kvėpavimo takų lygiųjų raumenų fiziologinį atsaką, taip pat struktūrinius ir geometrinius veiksnius, turinčius įtakos oro srautui kvėpavimo takuose. Bronchų plečiamojo vaisto, dozės ir skyrimo būdo pasirinkimas yra klinikinis sprendimas. Atsako į bronchų plečiamuosius vaistus sąvokos nereikia painioti su obstrukcijos „išnykstanumu“, kuris yra kokybinis terminas, atspindintis FEV<sub>1</sub>/FVC normalizavimą (obstrukcijos išnykimą) po bronchų plečiamųjų vaistų pavartojimo. Kriterijai, skirti įvertinti FEV<sub>1</sub> ir FVC pokyčiui po bronchų plečiamojo vaisto pavartojimo, yra šie:

- 1) Absoliutusias pokytis, palyginti su pradine verte (išreiškiamas ml).
- 2) Santykinis pokytis, susijęs su pradine verte (išreiškiamas procentais).
- 3) Pokytis, susijęs su tiriamojo normine verte (išreiškiamas procentais).

2005 m. ATS/ERS strategijoje rekomenduotas FEV<sub>1</sub> ir FVC absoliutaus ir santykinio pokyčio derinys, lyginant su pradiniu dydžiu [1]. Teigiamas bronchų plėtimo mėginys traktuotas, kuomet FEV<sub>1</sub> ir (arba) FVC padidėja pavartojus bronchų plečiamąjį vaistą ≥ 12 proc., kas sudaro ≥ 200 ml tūrio. Pagrindinis šių kriterijų trūkumas tai, kad absoliutūs ir santykiniai FEV<sub>1</sub> ir FVC pokyčiai yra atvirkščiai proporcingi pradinei plaučių funkcijai ir yra susiję su tiriamųjų ūgiu, amžiumi, lytimi tiek sveikiems, tiek sergantiems asmenims. Naujuosiuose 2022 m. ERS/ATS plaučių funkcijos tyrimų interpretacijos standartuose rekomenduojama naudoti FEV<sub>1</sub> arba FVC pokytį kaip procentinį padidėjimą, palyginti su tiriamojo normine verte, kas sumažina lyties ir ūgio įtaką vertinant bronchų plėtimo mėginį [2, 14]. **Todėl bronchų plėtimo mėginio metu FEV<sub>1</sub> ir FVC pokyčiai yra**

## 2 lentelė. Spirometriniai rodikliai, leidžiantys diferencijuoti ekstratorakalinę obstrukciją nuo intratorakalinės

Rodikliai	Ekstratorakalinė obstrukcija		Intratorakalinė obstrukcija
	Fiksuota	Variabili	
PEF	↓	N/↓	↓
FIF <sub>50 proc.</sub>	↓	↓	N/↓
FIF <sub>50 proc.</sub> /FEF <sub>50 proc.</sub>	~1	<1	>1

FEF<sub>50 proc.</sub> – forsuoto iškvėpimo srautas, iškvėpus 50 proc. FVC; FIF<sub>50 proc.</sub> – forsuoto įkvėpimo srautas, įkvėpus 50 proc. FVC; N – norma; PEF – didžiausias iškvėpimo srautas.

# Pulmonologija ir alergologija

vertinami procentiniu norminių dydžių skirtumu, o padidėjimas > 10 proc. rodo reikšmingą pokytį:

$$\text{Bronchus plečiamasis atsakas} = \frac{[\text{podilatacinė vertė (l)} - \text{priešdilatacinė vertė (l)}] \times 100}{\text{norminė vertė (l)}}$$

Nustatyta, kad FVC pokyčiai, o ne FEV<sub>1</sub>, geriau atspindi fiziologinius oro spąstų procesus. Kiti forsuoto iškvėpimo srautai, pvz., PEF arba FEF<sub>25-75 proc.</sub>, yra labai kintantys ir reikšmingai veikiami FVC pokyčių, todėl jų vertės prieš ir po bronchų plečiamojo vaisto pavartojimo yra nelygintinos.

## VENTILIACIJOS SUTRIKIMAI, NUSTATYTI PLAUCIŲ TŪRIŲ IR TALPŲ MATAVIMU

Siekiant iširti plaučių tūrius ir talpas, dažniausiai naudojama kūno pletizmografija arba dujų praskiedimo (pašalinimo) metodai. Sergant obstrukcinėmis ligomis, dėl plaučių ventilacijos netolygumo, matuojant FRC, alveolių tūrį (V<sub>A</sub>) ir TLC dujų praskiedimo (pašalinimo) metodais, galimos tam tikros paklaidos. Pavyzdžiui, TLC gali būti nedidelė, nes išmatuojamas tik esantis plaučiuose dujų tūris. Atliekant vieno įkvėpimo testą (pvz., V<sub>A</sub> iš D<sub>LCO</sub> tyrimo) gauta žema TLC vertė neturėtų būti interpretuojama kaip restrikcija (ypač esant sumažėjusiam FEV<sub>1</sub>/FVC), nes tokie matavimai sistemingai nustato per mažą TLC [15]. Nepakankamo plaučių tūrio įvertinimo laipsnis didėja, sunkėjant obstrukcijai ir ryškėjant regioniniam ventilacijos netolygumui, todėl TLC gali būti nepakankamai įvertinta taikant dujų praskiedimo metodą net iki 3 l. Taip pat, atliekant kūno pletizmografiją pacientui su sunkia obstrukcija, plaučių tūrio dydis gali būti pervertintas galimai dėl nepakankamai įvertinamo alveolinio slėgio burnos ertmėje ir padidėjusio ekstratorakalinių kvėpavimo takų tūsumo.

GLI plaučių tūrių norminės lygtys koreguojamos pagal tiriamojo ūgį, bet ne svorį [16, 17]. Tačiau plaučių tūrius ir talpas gali veikti nutukimas [16, 17]. Kai kūno masės indeksas (KMI) > 30 kg/m<sup>2</sup>, reikšmingai sumažėja funkcinė liekamoji talpa (FRC) ir rezervinis iškvėpimo tūris (ERV). Esant ekstremaliai nutukimui, pastebimi ir obstrukciniai, ir restrikciniai ventilacijos sutrikimai. Nepaisant to, daugumos nutukusių asmenų išmatuoti plaučių tūriai ir talpos vis dar yra normalūs, o TLC paprastai nesumažėja, kol KMI neviršija 40 kg/m<sup>2</sup>. Todėl, esant nutukimui, normos neatitinkantys rezultatai turi būti interpretuojami atsargiai.

### Restrikcija

Spirometrija leidžia tik įtarti restrikciją, o tai patvirtinti gali plaučių tūrių ir talpų matavimai. **Plaučių tūrių sumažėjimas apibūdinamas kaip restrikcinis ventilacijos sutrikimas, kuris charakterizuojamas**

**TLC sumažėjimu žemiau ANR (t. y. žemiau 5-ojo norminio dydžio procentilio).** Spirometriniu tyrimu irgi galima įtarti restrikcinį sutrikimą, kai nustatoma sumažėjusi FVC ir normalus arba padidėjęs FEV<sub>1</sub>/FVC, o srauto-tūrio kreivė yra išgaubtos formos (atspindi didelę elastinę atotampą) [10]. Tačiau sumažėjusi FVC pati savaime neįrodo restrikcinio ventilacijos sutrikimo, nes tik mažiau nei pusei atvejų nustatoma sumažėjusi TLC. Ir atvirkščiai, normalūs FVC ir FEV<sub>1</sub>/FVC pokitimai atmeta restrikcijos galimybę.

Daugumos restrikcinių ligų atvejais FEV<sub>1</sub>, FVC ir TLC paprastai sumažėja maždaug ta pačia dalimi – šis sutrikimas vadinamas *paprasta restrikcija* [18]. Tačiau kai kuriems asmenims FVC sumažėja neproporcingai labiau nei TLC (TLC proc. norminis dydis – FVC proc. norminis dydis > 10 proc.), ir nustatomas neproporcingai padidėjęs RV. Ši restrikcija vadinama *sudėtine restrikcija* ir yra susijusi su procesais, kurie pablogina oro pasišalinimą iš plaučių, pvz., nervų-raumenų ligos, krūtinės ląstos judrumo apribojimai arba slapta obstrukcija su oro spąstais [18].

### Obstrukcija

Obstrukcinis ventilacijos sutrikimas paprastai nustatomas spirometriniu iškvėpimo oro srauto matavimu. Tačiau yra specifinių plaučių tūrių ir talpų pokyčių, susijusių su obstrukcija, kuri paprastai atspindi hiperinfliaciją arba oro spąstus. Tai VC, įkvėpimo talpos (IC) ir FVC sumažėjimai bei FRC ir RV padidėjimas. Paprastai TLC ir kitų tūrių matavimas suteikia nedaug papildomos informacijos spirometriškai nustatytus obstrukcinį ventilacijos sutrikimą. Tačiau šie matavimai gali būti naudingi esant ribiniams arba nebūdingiems spirometriniams pokyčiams. Vienas iš ankstyvųjų smulkiųjų kvėpavimo takų ligos pasireiškimų yra RV arba RV/TLC padidėjimas dėl priešlaikinio kvėpavimo takų užsidarymo ir oro spąstų. Besivystant pokyčiams, plaučių hiperinfliaciją ir oro spąstus atspindi FRC arba FRC/TLC, dažnai ir TLC, padidėjimai. Padidėjęs RV/TLC taip pat gali būti nustatytas esant raumenų silpnumui arba nepakankamoms pastangoms ir kai kuriais restrikcijos atvejais, kuomet TLC sumažėja proporcingai daugiau nei RV.

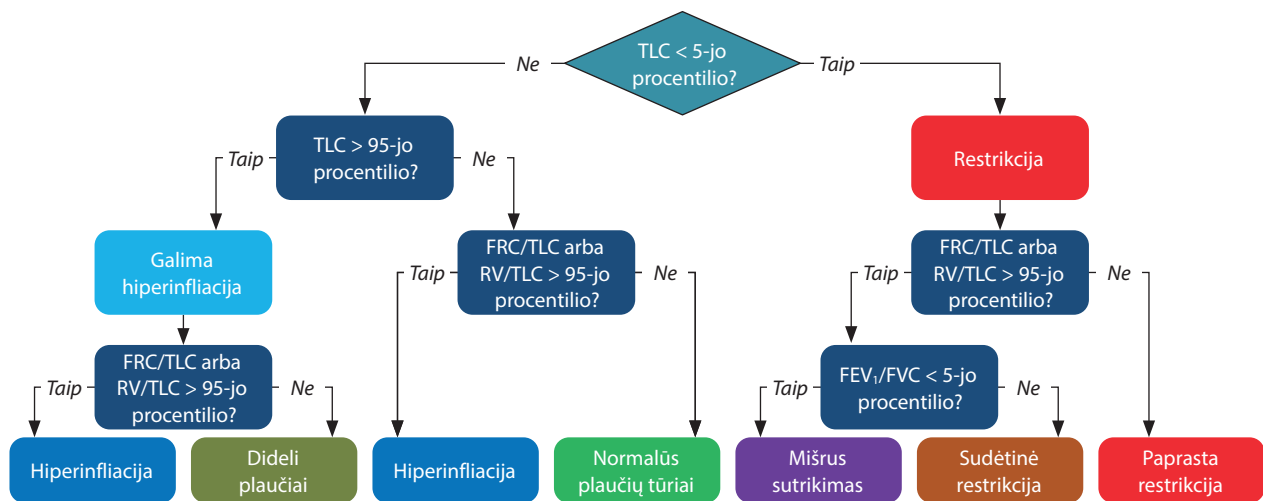
### Mišrus sutrikimas

Mišriam ventilacijos sutrikimui būdingi ir obstrukcijos, ir restrikcijos požymiai. **Mišrus ventilacijos sutrikimas nustatomas, kuomet FEV<sub>1</sub>/FVC ir TLC yra žemiau ANR (t. y. žemiau 5-ojo norminio dydžio procentilio).** Jei FEV<sub>1</sub>/FVC ir FVC yra sumažėję, bei neišmatuota TLC, gali būti, kad FVC sumažėjo dėl padidėjusio RV. Ir atvirkščiai, kai FEV<sub>1</sub>/FVC yra mažas, o FVC yra normalus, beveik visada galima atmesti restrikciją. Mišrus ventilacijos sutrikimas paprastai pasireiškia plaučių parenchimos pažeidimo

**3 lentelė. Ventilacijos sutrikimai, nustatomi tiriant plaučių tūrius**

Sutrikimai	TLC	FRC	RV	FRC/TLC	RV/TLC	Pastabos
Dideli plaučiai	↑	↑	↑	N	N	Tai normos variantas, kuomet viršija VNR
Obstrukcija	N/↑	N/↑	↑	N/↑	↑	Hiperinflacija, jei FRC/TLC ir RV/TLC padidėję; oro spąstai, jei padidėjęs tik RV/TLC (pvz., LOPL)
Paprasta restrikcija	↓	↓	↓	N	N	Pavyzdžiui, IPL
Sudėtinė restrikcija	↓	↓	N/↑	N	↑	Kai FEV <sub>1</sub> /FVC yra normalus, sudėtinė restrikcija reiškia procesą, prisidedantį prie restrikcijos, kuomet neproporcingai sumažėja FVC, palyginti su TLC (pvz., smulkiųjų kvėpavimo takų liga su oro spąstais ir nutukimu)
Mišrus sutrikimas	↓	N/↓	N/↑	N/↑	N/↑	Įprastai FEV <sub>1</sub> /FVC yra sumažėjęs (pvz., IPL ir LOPL)
Raumenų silpnumas	↓	N/↓	↑	↑	↑	Kai tiriamojo pastangos pakankamos; TLC sumažėja ypač esant diafragmos silpnumui; RV padidėja, ypač esant iškvėpimo raumenų silpnumui
Nepakankamos pastangos	↓	N	↑	↑	↑	
Nutukimas	N/↓	↓	N/↑	N/↓	N/↑	ERV sumažėjęs; TLC sumažėja, esant labai dideliam KMI (> 40 kg/m <sup>2</sup> )

FEV<sub>1</sub> – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FVC – forsuota gyvybinė talpa; ERV – iškvėpimo rezervinis tūris; FRC – funkcinė liekamoji talpa; IPL – intersticinė plaučių liga; KMI – kūno masės indeksas; LOPL – lėtinė obstrukcinė plaučių liga; N – normalus; RV – liekamasis tūris; TLC – bendroji plaučių talpa; VNR – viršutinė normos riba.



**2 pav. Plaučių tūrių interpretacijos algoritmas [2]**

TLC – bendroji plaučių talpa; FRC – funkcinė liekamoji talpa; RV – liekamasis tūris; FEV<sub>1</sub> – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FVC – forsuota gyvybinė talpa.

ir ne plaučių sutrikimo deriniu, pvz., LOPL ir stazinis širdies nepakankamumas [19]. Tais atvejais, kai kartu yra obstrukcija ir restrikcija, sumažėjusio FEV<sub>1</sub>/FVC arba TLC jautrumas identifikuoti kurį nors vieną iš šių sutrikimų sumažėja.

3 lentelėje pateikiami spirometrinių rodiklių ir plaučių tūrio pokyčiai esant obstrukciniam, restrikciniam ir mišriam ventilacijos sutrikimams, o 2 paveiksle interpretacijos algoritmas, paremtas plaučių tūrių ir talpų pokyčiais.

## DUJŲ DIFUZIJOS SUTRIKIMAI

Dujų difuzija paprastai vertinama matuojant anglies monoksido įsisavinimą plaučiuose. Bendrą anglies monoksido įsisavinimą lemia alveolių-kapiliarų membranos paviršiaus plotas ir difuzinės savybės, kontaktuojančio kapiliarinio kraujo hemoglobino kiekis, reakcijos greitis tarp hemoglobino ir anglies

monoksido. Pirminiai registruojamieji rodikliai yra anglies monoksido pernešimo koeficientas ( $K_{CO}$ ) (išmatuojamas anglies monoksido koncentracijos pokytis einant laikui) ir  $V_A$  (dujų tūris, išmatuotas inertinių dujų praskiedimo būdu, kuriame yra anglies monoksido), kuriais apskaičiuojamas  $D_{LCO}$ , pagrindinis plaučių difuzinės gebos rodiklis:

$$D_{LCO} = K_{CO} \times V_A$$

Sumažėjusio  $D_{LCO}$  interpretacija turi būti vykdoma atsižvelgiant į  $V_A$  ir  $K_{CO}$  vertes (3 pav.).  $D_{LCO}$ ,  $V_A$  ir  $K_{CO}$  normos yra tarp 5-ojo ir 95-ojo procentilių (ANR ir VNR). Tačiau, mažėjant plaučių tūriui,  $K_{CO}$  didėja netiesiškai (mažesnis plaučių dujų tūris reiškia greitesnius anglies monoksido koncentracijos pokyčius dėl vis didesnio paviršiaus ploto ir tūrio santykio), ir šis „normalaus“  $K_{CO}$  diapazonas palaipsniui praranda prasmę. Todėl, nustačius mažą  $V_A$ , vadinamasis „nor-

# Pulmonologija ir alergologija

malus“  $K_{CO}$  (dažnai išreiškiamas kaip  $D_{LCO}/V_A$ ) „nekoreguoja“ esant mažiems plaučių tūriams [20].

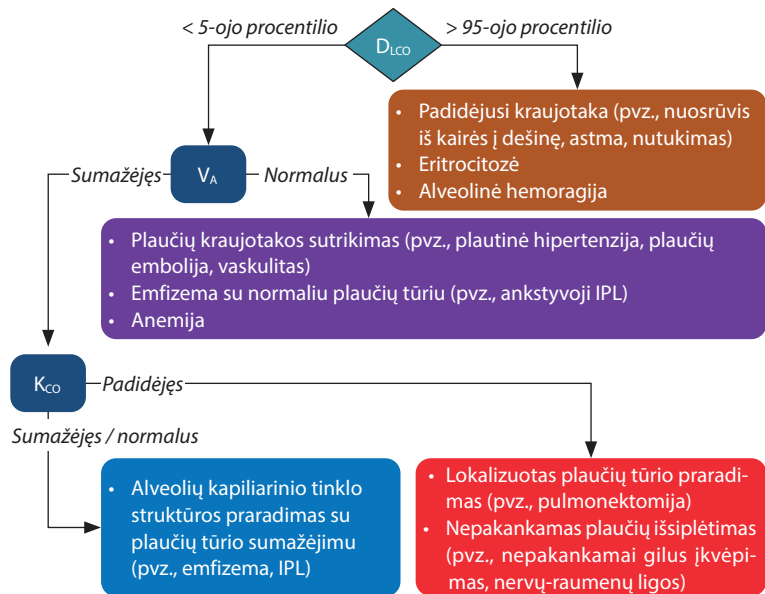
Naudinga palyginti  $V_A$  su TLC, išmatuota atliekant kūno pletizmografiją, siekiant nustatyti, ar dujų difuzijos tyrimui naudojamų dujų pasiskirstymas gali sukelti  $D_{LCO}$  sumažėjimą (kadangi anglies monoksido įsisavinimas vyksta tik tuose plaučių regionuose, kuriuose pasiskirsto tyrimo dujos). Normalus  $V_A/TLC$  suaugusiesiems yra 0,85–0,90. Sumažėjęs šis santykis rodo, kad dujų maišymosi sutrikimai greičiausiai prisideda prie žemo išmatuoto  $D_{LCO}$ . Aiškinant  $D_{LCO}$  tyrimo rezultatus taip pat reikia atsižvelgti į hemoglobino ir karboksihemoglobino kiekio pokyčius. Tai ypač svarbu tais atvejais, kai pacientai yra nuolat stebimi dėl galimo vaistų toksiško ir kai hemoglobino kiekis labai svyruoja.

## IŠVADOS

Klinicistas, vertindamas plaučių funkcijos tyrimų rezultatus, turi interpretuoti gautus rezultatus kaip normalius arba sutrikusius, atsižvelgiant į tiriamojo amžių, lytį, ūgį, etninę kilmę, medicininę dokumentaciją, galimų toksinių medžiagų ekspoziciją, apsvarstyti, kaip laikui bėgant keitėsi plaučių funkcijos rodikliai. Vertinant, ar gautas rezultatas reprezentuoja asmens plaučių funkciją, taip pat reikia atsižvelgti į tiriamojo pastangų kokybę. Nepakankamos kokybės tyrimas turi būti pakartotas prieš priimant svarbius klinikiškus sprendimus. Normalūs įprastų plaučių funkcijos tyrimų rezultatai neatmeta fiziologinių sutrikimų, ypač sergant lengva liga. Todėl specializuoti tyrimai, naudojami kartu su įprastais tyrimais, gali suteikti išsamesnį plaučių funkcijos vertinimą ir pagerinti klinikinę interpretaciją.

## LITERATŪRA

1. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005; 26:948–68.
2. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, Thompson B, Aliverti A, Barjaktarevic I, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J*. 2022; 60:2101499.
3. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3–95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012; 40:1324–43.
4. Stanojevic S, Graham BL, Cooper BG, Thompson BR, Carter KW, Francis RW, et al. Official ERS technical standards: Global Lung Function Initiative reference values for the carbon monoxide transfer factor for Caucasians. *Eur Respir J*. 2017; 50:1700010.
5. Hall GL, Filipov N, Ruppel G, Okitika T, Thompson B, Kirkby J, et al. Official ERS technical standard: Global Lung Function Initiative reference values for static lung volumes in individuals of European ancestry. *Eur Respir J*. 2020; 57:2000289.



3 pav. Dujų difuzijos interpretacijos algoritmas [2]

$D_{LCO}$  – plaučių difuzinė geba anglies monoksidui;  $V_A$  – alveolių tūris;  $K_{CO}$  – anglies monoksido pernešimo koeficientas; IPL – intersticinė plaučių liga.

6. Miller MR, Quanjer PH, Swanney MP, Ruppel G, Enright PL. Interpreting lung function data using 80 % predicted and fixed thresholds misclassifies more than 20 % of patients. *Chest*. 2011; 139:52–9.
7. Quanjer PH, Stanojevic S, Thompson BR. Spirometric thresholds and biased interpretation of test results. *Thorax*. 2014; 69:1146.
8. Saint-Pierre M, Ladha J, Berton DC, Reimao G, Castelli G, Marillier M, et al. Is the slow vital capacity clinically useful to uncover airflow limitation in subjects with preserved FEV1/FVC ratio? *Chest*. 2019; 156:497–506.
9. Kaminsky DA. What does airway resistance tell us about lung function? *Respir Care* 2012; 57: 85–96.
10. Aaron SD, Dales RE, Cardinal P. How accurate is spirometry at predicting restrictive pulmonary impairment? *Chest*. 1999; 115:869–73.
11. Thompson BR. Dysanapsis – once believed to be a physiological curiosity – is now clinically important. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017; 195:277–8.
12. Hyatt RE, Cowl CT, Bjoraker JA, Scanlon PD. Conditions associated with an abnormal nonspecific pattern of pulmonary function tests. *Chest*. 2009; 135:419–24.
13. Iyer VN, Schroeder DR, Parker KO, Hyatt RE, Scanlon PD. The nonspecific pulmonary function test: longitudinal follow-up and outcomes. *Chest*. 2011; 139:878–86.
14. Ward H, Cooper BG, Miller MR. Improved criterion for assessing lung function reversibility. *Chest*. 2015; 148:877–86.
15. Milite F, Lederer DJ, Weingarten JA, Fani P, Mooney AM, Basner RC. Quantification of single-breath underestimation of lung volume in emphysema. *Respir Physiol Neurobiol* 2009; 165:215–20.
16. Jones RL, Nzekwu MM. The effects of body mass index on lung volumes. *Chest*. 2006; 130:827–33.
17. Saliman JA, Benditt JO, Flum DR, Oelschlager BK, Dellinger EP, Gosset CH. Pulmonary function in the morbidly obese. *Surg Obes Relat Dis*. 2008; 4:632–9.
18. Clay RD, Iyer VN, Reddy DR, Siontis B, Scanlon PD. The “complex restrictive” pulmonary function pattern: clinical and radiologic analysis of a common but previously undescribed restrictive pattern. *Chest*. 2017; 152:1258–65.
19. Diaz-Guzman E, McCarthy K, Siu A, Stoller JK. Frequency and causes of combined obstruction and restriction identified in pulmonary function tests in adults. *Respir Care*. 2010; 55:310–6.
20. Hughes JM, Pride NB. Examination of the carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) in relation to its KCO and VA components. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186:132–9.

## Mastocitozė – kas tai?

MASTOCYTOSIS – WHAT IS IT?

LAURA MALINAUSKIENĖ<sup>1,2</sup>, KĘSTUTIS ČERNIAUSKAS<sup>1,2</sup>, ANŽELIKA CHOMIČIENĖ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>VU MF Klinikinės medicinos institutas Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika

<sup>2</sup>Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikos Pulmonologijos ir alergologijos centras

**Santrauka.** Mastocitozė yra reta liga, kuriai būdingas patologiinių putliųjų ląstelių kaupimasis audiniuose (dažniausiai odoje, kaulų čiulpuose ir virškinamajame trakte) kartu su putliųjų ląstelių aktyvacijos ir degranuliacijos simptomais. Mastocitozė gali pasireikšti tiek vaikams, tiek suaugusiesiems. Daugiau nei 90 proc. suaugusiųjų ir 80 proc. vaikų, sergančių mastocitoze, nustatomos somatinės c-kit mutacijos. Odos mastocitozės diagnozė įtariama esant būdingiems makulopapuliniais odos išbėrimams ir patvirtinama odos biopsija. Reikia atlikti triptazės ir sisteminį ištyrimą. Sisteminės mastocitozės diagnozė grindžiama Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) kriterijais. Remiantis PSO, mastocitozė yra suskirstyta į kategorijas, turinčias skirtingus klinikinius ir prognostinius savitumus, kuriais vadovaujamosi gydant. Šiame straipsnyje pateikiamos praktinės žinios apie mastocitozės diagnostiką ir gydymą.

**Reikšminiai žodžiai:** putlioji ląstelė, mastocitozė, diagnozė, klasifikacija, c-kit, triptazė, diagnostiniai kriterijai.

**Summary.** Mastocytosis is a rare disorder characterized by accumulation of pathologic mast cells in the tissues (most often skin, bone marrow, and gastrointestinal tract), and accompanied by symptoms of mast cell activation and degranulation. Mastocytosis can affect both children and adults. More than 90 % of adults and 80 % of children with mastocytosis are detected to have the somatic gain of function mutations in the c-kit. The diagnosis of mastocytosis is established by the presence of characteristic maculopapular skin lesions and confirmed by skin biopsy. Tryptase and systemic investigation should be carried out. Diagnosis of systemic mastocytosis is based on World Health Organization (WHO) criteria. According to WHO, mastocytosis is classified into categories, with distinct clinicopathologic and prognostic features that guide the therapy. In this article, current practical knowledge regarding diagnosing and treating mastocytosis is presented.

**Keywords:** mast cells, mastocytosis, diagnosis, classification, c-kit, tryptase, diagnostic criteria.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1014>

Mastocitozė – tai heterogeniška ligų grupė, kuriai būdinga kloninė pakitusių mastocitų (putliųjų ląstelių (PL) proliferacija ir kaupimasis viename arba keliuose organuose.

### EPIDEMIOLOGIJA

Visos mastocitozės formos yra retos, bet nežinomas tikslus paplitimas. Retų ligų tinklalapyje [www.orpha.net](http://www.orpha.net) nurodoma, kad sisteminė mastocitozė (SM) Europoje serga 1–5 iš 10 000, o odos mastocitozė (OM) serga 0,1–0,8 proc. visų dermatologinių pacientų. Vyrų ir moterų serga vienodai dažnai, nors vaikystėje šiek tiek dažniau ja serga berniukai, o suaugus – moterys. 80 proc. vaikų mastocitozės atvejų pasireiškia pirmaisiais gyvenimo metais ir dažniausiai tai OM formos. Didelė dalis odos mastocitozės sergančiųjų pasiekia remisiją arba pasveiksta sulaukę paauklystės. Suaugusieji dažniau serga SM, kuri linkusi persistuoti. OM sudaro iki 5 proc. suaugusiųjų formų.

### ETIOLOGIJA IR PATOFIZIOLOGIJA

PL yra imuninės sistemos ląstelės, kurios vystosi iš pluriotentinių hematopoetinių ląstelių ir subręsta audiniuose (odos, plaučių, virškinamojo trakto glei-

vinėje). PL fenotipas priklauso nuo audinio, kuriame jos bręsta, mikroaplinkos. PL augimą, išgyvenamumą, diferenciaciją reguliuoja kamieninių ląstelių faktorius (KLF) arba KIT ligandas, kuris veikia per transmembraninį tirozinkinazės receptorių (arba KIT receptorių, CD117). Šių receptorių koduoja c-kit genas.

PL dalyvauja įgimame (apsaugant organizmą nuo infekcijų, neutralizuojant toksinus) ir įgytame imunitame atsake (pvz., autoimuniniuose ir uždegiminiuose procesuose, alerginėse reakcijose).

Suaktyvintos PL išskiria įvairius mediatorius. Dalis jų yra jau susintetinti ir iš PL degranuliuojant išskiriami per 1–5 min. po stimuliacijos (histaminas, tumor nekrozės faktorius, triptazė ir kitos proteazės). Kiti mediatoriai (fosfolipidų produktai – prostaglandinas D2 ir leukotrienai, įvairūs citokinai ir chemokinai) sintetinami *de novo* ir išskiriami per 6–24 val. Skirtingi mediatoriai ir jų kombinacijos gali lemti įvairius klinikinius simptomus.

Sergant mastocitoze dažniausiai nustatoma somatinė *gain-of-function* taškinė c-kit geno mutacija.

KIT (CD117) yra III tipo tirozinkinazės receptorių, kurį ekspresuoja PL, kraujodaros pirmtakų ląstelėse, lytinių ląstelių, melanocitai ir intersticinės virškinama-



# Pulmonologija ir alergologija

jame trakte esančios Cajal ląstelės (jos perduoda lėtus elektrinius impulsus lygiesiems žarnyno raumenims). Šis receptorių funkciškai reikšmingas normaliam PL vystymuisi, hematopoezei, gametogenezei, melanogenezei ir žarnyno peristaltikai. KIT ekspresija nuslopinama kraujodaros kamieninėms ląstelėms diferencijuojantis į brandžias formas, išskyrus PL. KIT ir jo sąveika su ligandu, kamieninių ląstelių faktoriumi (KLF), yra esminis reguliuojant PL dauginimąsi, brandimą, chemotaksį ir gyvavimo trukmę.

Taškinė c-kit mutacija dažniausiai (80–90 proc.) įvyksta c-kit geno 17 egzono 816 kodone (D816V). Ši arba kitos retesnės mutacijos nulemia, kad geno aktyvacija nebepriklauso nuo tirozinkinazės (arba KLF), o tai sukelia nevaldomą PL pirmtakių proliferaciją, prailgina subrendusių PL išgyvenamumą, sustiprina degranuliaciją. Kol kas nežinoma, ar klinikinė mastocitozės raiška priklauso nuo vienos, ar kelių mutacijų kombinacijos.

## KLASIFIKACIJA

Pagal organų pažeidimą mastocitozė skirstoma į OM ir SM. Per OM pažeidžiama tik oda, SM atveju pažeidžiami ekstrakutaniniai organai (su arba be odos pažeidimo) (1 lentelė).

### 1 lentelė. Mastocitozės klasifikacija pagal Pasaulio sveikatos organizaciją (2016)

<b>1. Odos mastocitozė</b>
Makulopapulinė odos mastocitozė (dar žinoma ir kaip pigmentinė dilgėlinė): <ul style="list-style-type: none"><li>• Monomorfinė makulopapulinė odos mastocitozė*</li><li>• Polimorfinė makulopapulinė odos mastocitozė*</li><li>• Difuzinė odos mastocitozė</li><li>• Mastocitoma</li></ul>
<b>2. Sisteminė mastocitozė</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Indolentinė sisteminė mastocitozė</li><li>• Rusenanti sisteminė mastocitozė</li><li>• Agresyvi sisteminė mastocitozė</li><li>• Sisteminė mastocitozė su susijusia hematologine (ne putliųjų ląstelių) neoplazija</li><li>• Putliųjų ląstelių leukemija</li></ul>
<b>3. Putliųjų ląstelių sarkoma</b>

\*Siūlomas makulopapulinės odos mastocitozės skirstymas į du variantus pagal 2016 m. Europos ir Jungtinių Amerikos Valstijų odos mastocitozės sutarimą (dabartinėje Pasaulio sveikatos organizacijos klasifikacijoje šie variantai neišskirti).

## KLINIKA

### Odos mastocitozė

Kloninių PL infiltracija odoje, kuri išoriškai pasireiškia įprastu išbėrimu, vadinama OM. OM gali pasireikšti vaikams ir suaugusiesiems. Dažniau izoliuota OM nustatoma vaikams, o suaugusiesiems asmenims – SM su arba be odos išbėrimo. Suaugusiesiems izoliuota OM būna labai retai, visada rekomenduojama atlikti detalų ištyrimą dėl galimos piktybinės hematologinės ligos.

**Vaikų difuzinė odos mastocitozė (DOM)** yra itin reta, jai būdinga generalizuota odos eritema, odos sustorėjimas (pachidermija), o ne atskiri išbėrimai. DOM gali pasireikšti ir didelėmis skausmingomis pūslėmis, kurias gali išprovokuoti trynimasis, kasymas, aukšta aplinkos temperatūra, virusinės infekcijos arba dantų dygimas. Polinkis susidaryti pūslėms paprastai mažėja sulaukus 3–4 metų. Neretai vaikams gali pasireikšti raizantys pilvo skausmai arba viduriavimas. Šių pacientų kraujo triptazės kiekis paprastai būna padidėjęs, bet nenustatoma sisteminio organų pažeidimo. Vis dėlto, šie vaikai turi būti reguliariai tiriami vaikų hematologo. Dažniausiai DOM eiga gerybinė, odos pokyčiai regresuoja vaikui lytiškai subrendus.

**Mastocitoma** apibūdinama kaip vienas, iškilus rusvas, rausvas arba gelsvas odos išbėrimas. Kraujo triptazės kiekis paprastai būna normalus, o sisteminis organų pažeidimas šiai OM formai nebūdingas. Paprastai mastocitomos išnyksta suaugus.

Suaugusiųjų OM dažnai būna susijusi su SM. Ligos eiga dažniausiai yra lėtinė. Apie 50 proc. suaugusiųjų OM sergančiųjų per gyvenimą pasireiškia anafilaksija.

Suaugusiesiems būdingi maži, apvalūs, rusvi arba rausvi monomorfiški odos išbėrimai, kurie seniau literatūroje vadinti pigmentine dilgėline (1 pav.). Naujai atsiradę išbėrimai diferencijuojami su spontanine



1 pav. Difuzinė odos mastocitozė: centre matomas teigiamas Darier simptomas – pūkslė patrynus išbėrimo elementą.

dilgeline. Pagrindinis OM ir ilgėlinės skirtumas tas, kad OM išbėrimai nepraeina per 24 val. kaip įprastos ilgėlinės atveju. Pirmiausia išbėrimai atsiranda pažastyse arba apatinėje liemens srityje, vėliau gali išplisti viršutinėje liemens srityje, kaklo šonuose, rankose ir kojose. Dažniausiai veido odoje išbėrimų nebūna. Dažniausiai OM išsivysto 20–35 metų pacientams, bet pasitaiko atveju, kai pirmieji išbėrimai atsiranda 65–70 metų.

## SISTEMINĖ MASTOCITOZĖ

SM būdingi B ir C simptomai (2 lentelė) arba ji gali būti besimptomė ir įtariama arba nustatoma tik kartojantis anafilaksijai, kuri išsivysto dėl PL aktyvacijos (2 lentelė). Sergant SM yra PL sancaupų vidaus organuose (dažniausiai odoje, virškinamajame trakte ir kaulų čiulpuose, rečiau – kepenyse, blužnyje, limfiniuose mazguose arba kauluose, beveik niekada inkstuose arba vidaus sekrecijos liaukose).

### 2 lentelė. B ir C simptomai

<b>B (angl. burden of disease) simptomai</b>	
1. Padidėjusi putliųjų ląstelių masė	> 30 proc. putliųjų ląstelių agregatų bioplate ir (arba) serumo triptazė > 200 ng/ml
2. Displazijos arba mieloproliferacijos požymiai	Mielodisplastinis sindromas arba mieloproliferacijos požymiai kaulų čiulpuose ir normalūs arba nedaug pakitę periferinio kraujo rodikliai, bet nėra asocijuotos hematologinės neoplazijos
3. Organomegalija	Padidėjusios kepenys be disfunkcijos arba ascito, limfmazgiai > 2 cm, palpuojama padidėjusi blužnis be hipersplenizmo
<b>C (angl. cytoreduction requiring) simptomai</b>	
1. Citopenijos	Absoliutūs neutrofilų skaičius < 1 000/μl, hemoglobio kiekis kraujyje < 100 g/l ir (arba) trombocitų skaičius < 100 000/μl
2. Kepenys	Palpuojama hepatomegalija, kepenų funkcijos nepakankamumas, ascitas ir (arba) portinė hipertenzija
3. Kaulai	Dideli osteolizės židiniai su (be) patologiniais lūžiais
4. Blužnis	Hipersplenizmas ir splenomegalija
5. Virškinamasis traktas	Malabsorbcija su kūno svorio mažėjimu ir hypoalbuminemija
6. Kiti	Gyvybei pavojingas vidaus organų pažeidimas kitose vidaus organų sistemose, kurį sukelia lokali putliųjų ląstelių infiltracija

## SIMPTOMUS PROVOKUOJAMIEJI VEIKSNIAI

PL degranuliaciją gali sukelti įvairūs veiksniai, nors ne visi šie veiksniai vienodai ir visą laiką sukelia simptomus mastocitoze sergantiesiems. Taigi, provokojamuosius veiksnius reikia išsiaiškinti individualiai.

Galimi provokuojamieji veiksniai yra:

- Plėviasparnių vabzdžių arba nuodingų gyvūnų įgėlimas.
- Medikamentai (narkotikai, opioidai, nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo, jodokonstrastinės medžiagos, vankomicinas, miorelaksantai).
- Fiziniai veiksniai (fizinis krūvis, masažas arba odos trynimasis, staigūs aplinkos temperatūros pasikeitimai, labai aštrus maistas).
- Operacijos arba manipuliacijos (pavyzdžiui, endoskopija, biopsija).
- Alkoholio vartojimas.
- Infekcijos (virusinės, bakterinės, parazitinės).
- Emocinis stresas.

## Alergija plėviasparnių vabzdžių nuodams ir mastocitozė

Ypač svarbu atkreipti dėmesį į pacientus, kurie yra alergiški plėviasparnių (bičių, širšių, vapsvų) nuodams ir serga mastocitoze, nes jie gali patirti ypač sunkią ir netgi mirtiną anafilaksiją. Šiems pacientams rekomenduojama visą gyvenimą trunkanti specifinė imunoterapija vabzdžių nuodais, taikant didesnes nei įprastai nuodų dozes.

Mastocitozė nustatoma apytiksliai 2 proc. pacientų, alergiškų vabzdžių nuodams, o apie 25 proc. sergančiųjų mastocitoze pasireiškia anafilaksija po vabzdžių įgėlimo.

Nustatyta, kad didžiausia sunkios anafilaksijos rizika yra specifinei pacientų grupei, sergančiai indolentine SM: dažniausiai tai vyrai, be odos mastocitozės požymių, neturintys KIT geno mutacijos, o jų triptazė kraujyje nėra didelė. Esant agresyviai SM arba SM, susijusiai su hematologiniu neoplastiniu susirgimu, alergija vabzdžių nuodams paprastai nepasireiškia.

Įvertinti PL proliferacijos sutrikimą ir (arba) padidėjusį serumo triptazės kiekį įvykus anafilaksijai po vabzdžio įgėlimo svarbu dėl kelių priežasčių:

- Sergantis mastocitoze pacientas greičiau praranda apsaugantį specifinės imunoterapijos poveikį ją nutraukus, o tai susiję su sunkia arba netgi mirtina anafilaksija po pakartotino įgėlimo.
- Šiems pacientams didesnė rizika patirti anafilaksiją dėl specifinės imunoterapijos (leidžiant nuodus arba įgėlus vabzdžiui).
- Įrodžius PL proliferacinį sutrikimą, gydymas specifine nuodų imunoterapija rekomenduojamas visą gyvenimą.
- Sergantysis mastocitoze su savimi turi turėti du automatinius epinefrino švirkštikius.

2 paveiksle pateikiamas klinikinis atvejis.

## Padidėjusio jautrumo reakcijos į vaistus Bendroji nejautra ir mastocitozė

Kadangi kai kurie medikamentai, naudojami periorchirurginiu laikotarpiu, gali sukelti PL degranuliaciją, rekomenduojamos atsargumo priemonės.

# Pulmonologija ir alergologija

- 45 metų moteris.
- Nuo 40 metų amžiaus prasidėjo anafilaksinės reakcijos po vapsvų įgėlimo.
- Reakcijos per kelias minutes, „išpila karštis“, didelis bendras silpnumas, pilvo skausmas, vėmimas, netenka sąmonės.
- Pacientė patyrė šešis anafilaksinius šokus.
- Simptomai išsivysto ir nepaisant suleisto adrenalino.
- Tyrimai: triptazė 23,2 ng/ml.
- Teigiami įdiniai mėginiai su skirtingos koncentracijos vapsvų nuodais.



- Specifiniai imunoglobulinai E vapsvai – 1 klasė, bitei – 0 klasė, širšei – 0 klasė.
- Gydytojo hematologo konsultacija – patvirtinta sisteminė mastocitozė.
- Pradėta specifinė imunoterapija vapsvos nuodais. Stebėtos tik vietinės reakcijos.
- Po vieno metų gydymo atliktas vabzdžių įgėlimo mėginys, kad būtų įsitikinta imunoterapijos veiksmingumu.



- Po 5 min. pacientei išsivystė viso kūno paraudimas, atsirado karščio pojūtis, tachikardija, triptazė 31 ng/ml. Provokacinis mėginys su vapsvos nuodais teigiamas, imunoterapijai naudota nuodų dozė per maža.
- Diagnozė: Anafilaksija, sukelta vapsvos nuodų.
- Nuodų dozė specifinei imunoterapijai padvigubinta ir po metų įgėlimo mėginys pakartotas – neigiamas.
- Pacientė apsaugota nuo galimos anafilaksijos.

**2 pav. Alergijos plėviasparnių vabzdžių nuodams ir mastocitozės klinikinis atvejis**

## *Prieš anesteziją:*

Rekomenduojama aptarti individualią mastocitoze sergančiojo riziką su gydytoju hematologu, gydytoju dermatologu ir gydytoju alergologu ir klinikiniu imunologu.

Per ankstesnes procedūras arba operacijas įvykus nepageidaujamoms reakcijoms arba įtariant alergiją vaistui, būtina tirti pacientą atliekant odos tyrimus, *in vitro* tyrimus ir provokacinius mėginius su vaistais ir (arba) saugia alternatyva.

## *Operacijos dieną:*

- Vengti specifinių vaistų, kurie galėjo sukelti arba sukėlė (patvirtinta tyrimais) padidėjusio jautrumo reakcijas anamnezėje.
- Suplanuoti procedūrą taip, kad būtų vengiama perteklinio šaldymo arba šildymo, spaudimo (pvz., sukeliama arterinio kraujospūdžio matavimo aparato manžetės) arba užtrukusios anestezijos.
- Galima premedikacija H<sub>1</sub> antihistaminiais vaistais, benzodiazepiniais (pagal poreikį) ir gliukokortikoidais.

Premedikacijos schemas pavyzdys: 50 mg prednizolono (arba metilprednizolono 32–48 mg, arba deksametazono 4 mg) 13, 7 ir 1 val. iki procedūros ir klemastino 1 mg/ml 2 ml į raumenis 1 val. iki procedūros.

Nėra tyrimų, patvirtinančių premedikacijos arba kokios nors specifinės premedikacijos schemas veiksmingumą. Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos sutarimu, premedikacijos skyrimo įrodymai yra menki ir jos rekomendacija yra silpna (remiantis ekspertų nuomone).

## *Radiokontrastiniai tyrimai*

Nėra žinoma, ar lyginant su bendrąja populiacija, mastocitoze sergantiesiems yra didesnė anafilaksijos rizika, atliekant tyrimus su radiokontrastinėmis medžiagomis. Neaprašyta mirtinos anafilaksijos atvejų skiriant radiokontrastines medžiagas mastocitoze sergantiesiems. Daugumoje centrų sergantiesiems mastocitoze yra taikomas konservatyvus požiūris: tyrimai atliekami turint reanimacines priemones ir skiriant premedikaciją, nors jos veiksmingumas nežinomas.

## *Antibiotikai, priešuždegiminiai vaistai ir opioidai*

Europos alergologų ir klinikinių imunologų akademijos sutarime pateikiama išvada, kad neaišku, ar betalaktaminiai antibiotikai gali sukelti anafilaksiją mastocitoze sergantiesiems dažniau nei nesergantiesiems.

Kai kurios medikamentų molekulės gali jungtis tiesiogiai prie MRGPRX2 receptorių ant PL ir sukelti nuo imunoglobulino E nepriklausomą degranuliaciją, kuri kliniškai pasireiškia sisteminė, į anafilaksiją panašia reakcija (anksčiau vadinta anafilaktoidine arba pseudoalergija).

Nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo kai kuriems pacientams gali sukelti anafilaksiją, bet nežinomi specifiniai rizikingesni preparatai. Galbūt anafilaksijai pasireikšti reikalingi kofaktoriai (pvz., alkoholis, fizinis krūvis ir pan.).

*In vitro* ir *in vivo* tyrimai rodo, kad opioidai skiriasi pagal sugebėjimą atpalaiduoti histaminą iš PL. Didžiausiu PL degranuliuojamuoju poveikiu pasižymi morfijus, buprenorfinas, kodeinas ir meperidinas. Fentanilis pasižymi mažiausiu arba neturi jokio poveikio PL. Taigi, nors įrodymų lygis nedidelis, mastocitoze sergantiesiems geriau rinktis fentanilį ir jo derivatus.

Teoriškai didesnis PL kiekis ir padidėjęs dirglumas sergant mastocitoze padidina vaistų sukeltos anafilaksijos riziką. Yra aprašyti sunkios anafilaksijos atvejai sergantiesiems kloninėmis PL ligomis, kurias sukėlė nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo, jodokonstratinės medžiagos, antibiotikai, vaistai, naudoti periochirurginiu laikotarpiu, ir opioidai. Šiuo metu trūksta perspektyvinių, kontroliuojamųjų tyrimų, kurie tyrinėtų anafilaksijos dažnį ir sunkumą mastocitoze sergantiesiems. Taigi, kol kas negalima teigti, kad egzistuoja ryšys tarp greitojo tipo padidėjusio jautrumo reakcijų vaistams ir mastocitozės.

Mastocitoze sergantieji, kuriems pasireiškė padidėjusio jautrumo reakcijos į vaistus, turi būti ištirti alergologiniu požiūriu, kaip ir nesergantys mastocitoze pacientai. Kol bus atliktas ištyrimas, būtina vengti medikamentų, kurie galėjo sukelti simptomus. Nėra jokių duomenų, kad premedikacija prieš skiriant jodokonstratinės medžiagas arba anesteziją yra veiksminga, bet ir neįrodyta, kad ji neveiksminga. Praktikoje premedikacija prieš šias procedūras yra taikoma daugumoje centrų.

## DIAGNOSTIKA

Diagnostika remiasi paciento anamneze, apžiūra, laboratoriniais ir histologiniais tyrimais. Mastocitozė turi būti įtariama visiems pacientams, patyrusiems nepaaiškinamą anafilaksiją arba hipotenzinę reakciją be odos simptomų.

Atliekant odos išbėrimų apžiūrą, svarbus teigiamas Darier simptomas. Šį simptomą galima išgauti, kuomet įtariamas mastocitozei būdingas išbėrimas yra vidutinio stiprumo jėga pabraukomas su gerklės apžiūrai naudojama liežuvio mentele. Simptomas teigiamas, jeigu po kelių minučių mechaninio dirginimo vietoje atsiranda pūkslė su aplinkiniu paraudimu. Darier simptomas, skirtingai nei dermatografinė reakcija, pasireiškia tik tame odos plote, kuriame yra išbėrimas. Reiktų atkreipti dėmesį, kad suaugusiems Darier simptomas ne visada būna teigiamas. Be to, blogai atlikus šį mėginį galima išgauti klaidingai teigiamą rezultatą. Darier simptomą slopina sisteminių antihistamininių vaistų vartojimas.

Remiantis paskutiniu Europos ir Jungtinių Amerikos Valstijų ekspertų grupių sutarimu, OM diagnozuojama, jei yra įprastas odos išbėrimas su teigiamu Darier simptomu (didysis kriterijus), kartu su bent vienu iš mažųjų kriterijų: histologiškai patvirtinta PL infiltracija odoje ir (arba) odos išbėrime nustatyta aktyvi KIT mutacija. Suaugusiųjų odos mastocitozė – indikacija hematologiniam ištyrimui. Vaikų amžiuje hematologinis ištyrimas reikalingas tik tada, jeigu aukštas triptazės kiekis (>100 ng/ml).

## LABORATORINĖ DIAGNOSTIKA

Per PL aktyvaciją išskiriami ląstelėse esantys mediatoriai ir skatinama naujų mediatorių gamyba, kurie veikia skirtingas ląsteles-taikinius. Kai kurie mediatoriai yra specifiskesni – pavyzdžiui, triptazė yra tiksliausia nustatant įvykusią PL degranuliaciją. Triptazė – tai serino proteazė, esanti PL granulėse. Triptazės koncentracijos kraujyje nustatymas tiksliausias ir patikimiausias pirminis tyrimas, kai įtariama SM (nustatoma padidėjusi bazinė triptazės koncentracija) arba įvykus anafilaksija, bet jos diagnostinis jautrumas mažėja, esant lengvoms reakcijoms arba vėliau paėmus kraują tyrimams.

*Serumo triptazės tyrimas atliekamas:*

- Įtariant anafilaksinę reakciją (ypač su arterinio kraujospūdžio sumažėjimu) per 15 min.–3 val. nuo reakcijos pradžios.
- Kitą dieną po reakcijos (arba vėliau) turi būti atliekamas triptazės tyrimas baziniam lygiui nustatyti.
- Įtariant sisteminę mastocitozę.
- Esant odos mastocitozei.

Serumo triptazė gali būti padidėjusi sergant ūmine arba lėtine mieloleukemija arba mielodisplastiniu sindromu, taigi, jos diagnostinė vertė kartu esant mieloidinėms neoplazijoms ribota.

Vertinant triptazės kiekį kraujyje, svarbūs keli aspektai:

1. PL aktyvaciją patvirtina epizodinis triptazės koncentracijos padidėjimas, susijęs su klinikiniais simptomais. Rekomenduojama kraują triptazės tyrimui imti po 30 min.–3 val. nuo simptomų pradžios, o praėjus ne mažiau kaip 24–48 val. po simptomų išnykimo pakartotinai tirti jos koncentraciją, siekiant nustatyti individualų bazinį lygį.

2. Sutariama, kad triptazės koncentracijos padidėjimas 20 proc. + 2 ng/ml nuo bazinės triptazės labai būdingas PL aktyvacijai. Tiriama praėjus 30 min.–3 val. nuo anafilaksijos pradžios (didžiausia triptazė) ir praėjus kelioms dienoms po simptomų regresijos (bazinė triptazė). Jei didžiausia triptazė yra daugiau nei 120 proc. bazinės triptazės + 2 μg/l (bazinė triptazė × 1,2 + 2), laikoma, kad įvyko anafilaksija. Jeigu bazinė triptazės koncentracija yra > 20 ng/ml, pacientas turėtų būti tiriamas ir dėl kitų ligų, pavyzdžiui, paveldimos

# Pulmonologija ir alergologija

alfa triptazemijos, sisteminės mastocitozės ir nemastocitinių mieloidinių neoplazijų.

Kiti mediatoriai: histaminas (plazmoje, šlapime), histamino metabolitai (šlapime), PGD<sub>2</sub> metabolitas (11β-PGF<sub>2α</sub>) paros šlapime arba leukotrieno (LT) C<sub>4</sub> metabolitas LTE<sub>4</sub> šlapime taip pat gali būti tiriami, bet jie mažiau specifiški nei triptazė ir nėra pakankamai duomenų, kaip interpretuoti jų kiekių pokyčius.

Galimi ir ląsteliniai bei bazofilų aktyvacijos tyrimai. Patikimas ir patvirtintas PL aktyvacijos kriterijus yra CD63 ir (arba) CD203c ekspresija, bet šie tyrimai rutiniškai neatliekami dėl didelės kainos ir apsunkinto PL prieinamumo (jas galima gauti tik iš biopsinės medžiagos).

Esant triptazės padidėjimui ir įtariant mastocitozę, rekomenduotina atlikti kaulų čiulpų biopsiją, bendrą kraujo, laktatdehidrogenazės tyrimą, viso kūno kompiuterinę tomografiją, cKIT D816V mutacijos tyrimą, tėkmės citometrijos tyrimą, densitometriją, kitų organų biopsiją pagal vyraujančią simptomatiką.

Kai kuriems pacientams pasireiškia PL mediatorių sukelti simptomai, bet jie griežtai neatitinka PSO kriterijų SM, nepaisant nustatytos c-kit mutacijos ir CD25 ekspresijos ant kaulų čiulpų PL. Tokie atvejai klasifikuojami kaip putliųjų ląstelių aktyvacijos sindromai.

## SISTEMINĖS MASTOCITUZĖS DIAGNOSTIKOS ALGORITMAS

SM diagnozuojama, kai yra aptinkamas vienas pagrindinis (didysis) kriterijus ir vienas mažasis, arba bent trys iš keturių mažųjų kriterijų (3 lentelė, 3 pav.).

3 lentelė. Sisteminės mastocitozės kriterijai

<b>Didysis kriterijus</b>	• Histologinis: multifokalinių (mažiausiai 15 putliųjų ląstelių) infiltratų radimas kaulų čiulpuose arba kitame ekstrakutaniniame organe
<b>Mažieji kriterijai</b>	• Nebūdingos (> 25 proc.) putliosios ląstelės kaulų čiulpuose arba šeivos formos putliosios ląstelės (> 25 proc.) ekstrakutaninių organų infiltratuose • Serumo triptazė > 20 ng/ml • CD2 ir (arba) CD25 ekspresija kaulų čiulpų putliosiose ląstelėse • cKIT D816V mutacijos nustatymas kaulų čiulpuose arba kt. ekstrakutaniniuose organuose

## DIFERENCINĖ DIAGNOSTIKA

Paveldima alfa triptazemija yra autosominiu dominantiniu keliu paveldima būklė, kuria sergant aptinkamas TPSAB1 geno, koduojančio alfa triptazę,

4 lentelė. Diferencinė padidėjusios triptazės serume diagnostika

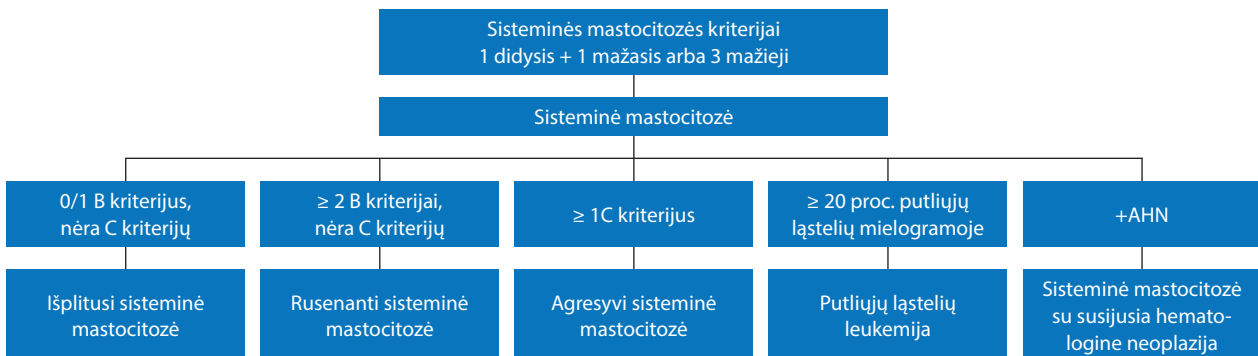
Susirgimas / būklė	Labiausiai tikėtina triptazės kilmė
Sisteminė mastocitozė	Kloninės PL
Mielomastocitinė leukemija	Mieloblastinės, supiktybėjusios PL
Ph+ lėtinė mieloleukemija	Kloniniai nebrandūs bazofilai
Lėtinė bazofilinė leukemija	Kloniniai nebrandūs bazofilai
Ūmi bazofilinė leukemija	Kloniniai nebrandūs bazofilai
Ūmi mieloleukemija	Mieloblastai
Mielodisplastinis sindromas	Mieloblastai, bazofilai, PL
Mieloproliferacinis navikas	Mieloblastai, bazofilai, PL
Mielodisplastinio sindromo / Mieloproliferacinio naviko persidengimo sindromas	Mieloblastai, bazofilai, PL
FIP1L1 / PDGFRA + lėtinė eozinofilinė leukemija	Kloninės PL
<b>Kitos ligos / būklės*</b>	
Alerginės ligos	PL
Lėtinė dilgėlinė	PL
Lėtinės uždegiminės ligos	PL
Lėtinė helmintozė	PL
Šeiminė alfa triptazemija	PL
Sunkus inkstų funkcijos nepakankamumas	PL
Sveikas individas**	PL
Klaidingai teigiamas tyrimo rezultatas***	–

\*Esant šioms ligoms / būklėms, dažniausiai aptinkama normali triptazės koncentracija.

\*\*Retais atvejais, be jokios žinomos priežasties padidėjusi triptazės koncentracija gali būti nustatoma visiškai sveikam asmeniui.

\*\*\*Klaidingai teigiamas rezultatas galimas esant heterofiliniams antikūnams, bet naujos tyrimo metodikos leidžia išvengti tokio rezultato. Dėl bakterinio užkrato arba mitybos įpročių šlapime gali būti aptinkami padidėję histamino ir jo metabolitų kiekiai.

PL – putlioji ląstelė.



3 pav. Sisteminės mastocitozės diagnostikos algoritmas

+AHN – sisteminė mastocitozė su susijusia hematologine neoplazija.

germinalinės replikacijos sutrikimas. Ši mutacija gali sukelti šeiminį putliųjų ląstelių aktyvacijos sindromą (PLAS), kurio simptomai gali būti lėtiniai ir (arba) ūminiai. Nėra tiksliai žinoma, kiek sergančiųjų PLAS serga ir paveldima alfa triptazemija, ir atvirkščiai. Be PL sukeltų simptomų gali pasireikšti ir kiti simptomai: disautonomija, lėtinis skausmas ir jungiamojo audinio sutrikimai, pavyzdžiui, sąnarių hiperomobilumas.

Labai retais atvejais padidėjęs triptazės kiekis gali būti nustatomas šeimose be genetinių (molekulinių) sutrikimų. Paprastai tokiu atveju padidėjimas yra nežymus.

Svarbu atkreipti dėmesį, kad triptazės kiekio padidėjimas *per se* nėra PL aktyvacijos rizikos veiksnys. Padidėjęs triptazės kiekis gali būti aptinkamas sergant mieloidiniais ne PL navikais, esant sunkiam inkstų funkcijos nepakankamumui, parazitozėms (4 lentelė).

Dažniausiai nustatomas PL aktyvacijos simptomas, dėl kurio įtariama SM, yra hipotenzija. Putliųjų ląstelių aktyvacijos sukeltų simptomų diferencinė diagnostika pateikiama 5 lentelėje.

## PRAKTINIS DIAGNOSTINIS ALGORITMAS

Esant sunkiai paciento būklei ir (arba) vidutiniškai / sunkiai hipotenzijai, būtina kliniškai stabilizuoti pacientą prieš tiriant galimą simptomų etiologiją. Įtariant PL degranuliacijos sukeltą reakciją, apžiūrint pacientą galima pastebėti įprastus mastocitozei odos pažeidimus.

Svarbu atkreipti dėmesį į:

- 1) Reakcijos sunkumą.
- 2) Ar reakcija sisteminė, kartu pasireiškus bent dviejų organų sistemose: širdies ir kraujagyslių, odos, plaučių arba virškinamajame trakte.
- 3) Ar simptomai linkę kartotis.
- 4) Ar simptomai gali būti dėl PL aktyvacijos. Tai galima patvirtinti, kai per 30 min.–3 val. nuo reakcijos pradžios paimamas kraujo triptazės tyrimas, kuris vėliau lyginamas su baziniu triptazės lygiu. Jeigu reakcija nelabai sunki, PL aktyvacija mažai tikėtina.

Mastocitozė įtariama, jei yra įprasti odos pokyčiai, nuolatinis padidėjęs triptazės kiekis kraujyje ir nustatoma KIT D816V mutacija periferinio kraujo leukocituose. Netiesioginiai mastocitozės požymiai yra padidėjusi bazinė triptazė, nustatyta po įvykusios reakcijos, D816V KIT mutacija cirkuliuojamuosiuose kraujo leukocituose arba kraujo formulės pokyčiai (pvz., eozinofilija). Kiti simptomai, leidžiantys įtarti SM: neaiškios kilmės osteoporozė, virškinamojo trakto simptomai (viduriavimas, raizantys pilvo skausmai arba malabsorbcija).

Vienas iš įrankių, padedančių skirti visišką paciento, patyrusio anafilaksinę reakciją, ištyrimą dėl mastocitozės, atsižvelgiant į triptazės kiekį ir simptomus, yra

**5 lentelė. Putliųjų ląstelių aktyvacijos sukeltų simptomų diferencinė diagnostika**

<b>Širdies ir kraujagyslių sistemos ligos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Miokardo infarktas</li> <li>• Endokarditas / endomiokarditas</li> <li>• Aortos stenozė su sinkope</li> <li>• Plaučių embolija</li> </ul>
<b>Endokrininės ligos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ūminis hipotirodizmas</li> <li>• Ūminė hipoglikemija</li> <li>• Antinksčių nepakankamumas</li> <li>• Hipopituitarizmas</li> </ul>
<b>Virškinimo sistemos sutrikimai (esant viduriavimui ir dehidratacijai)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ūminė uždegiminė žarnyno liga</li> <li>• VIP sekretuojantis tumoras (VIPoma)</li> <li>• Krono ligos arba opinio kolito paūmėjimas</li> <li>• Intoksikacija maistu</li> </ul>
<b>Infekcinės ligos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sunki bakterinė arba virusinė infekcija su / be septiniu šoku</li> <li>• Ūminė žarnyno infekcija su dehidratacija</li> <li>• Ūminis encefalitas / meningitas</li> <li>• Ūminė parazitozė</li> </ul>
<b>Neurologinės / CNS ligos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Epilepsija</li> <li>• CNS auglys</li> <li>• Kitos CNS ligos</li> <li>• Intoksikacija</li> <li>• Psichiatriniai sutrikimai</li> </ul>
<b>Odos ligos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paveldima arba įgyta angioedema</li> <li>• Paprastoji pūslinė</li> <li>• Ūminė sisteminė raudonoji vilkligė</li> <li>• Ūminės toksinės dermatozės</li> </ul>
<b>Kraujo ligos: ūminė anemija su / be hipovoleminiu šoku</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ūminis kraujavimas iš virškinamojo trakto</li> <li>• Metroragija</li> </ul>
<b>Nepageidaujamos vaistų sukeltos reakcijos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaistų sukelta hipoglikemija</li> <li>• Vaistų sukelta hipotenzija</li> <li>• Vaistų sukeltas viduriavimas</li> <li>• Vaistų sukeltas CNS pažeidimas</li> </ul>

CNS – centrinė nervų sistema.

REMA (angl. *Clinical Reference Centre for the Spanish Network on Mastocytosis*) klausimynas (6 lentelė).

**6 lentelė. Ispanų mastocitozės tinklo klausimynas kloniniams putliųjų ląstelių aktyvacijos sutrikimams nustatyti**

<b>Lytis</b>	Vyras	+1
	Moteris	-1
<b>Klinikiniai simptomai</b>	Dilgėlinės arba angioedemos nebuvimas	+1
	Dilgėlinė ir (arba) angioedema	-2
	Presinkopė ir (arba) sinkopė	+3
<b>Triptazė</b>	< 15 ng/ml	-1
	> 25 ng/ml	+2

Balų suma < 2: putliųjų ląstelių aktyvacijos ligos tikimybė nedidelė.

Balų suma ≥ 2: didelė putliųjų ląstelių aktyvacijos ligos rizika.

## MASTOCITOEI BŪDINGI KLINIKINIAI VARIANTAI

Literatūroje pateikiami klinikiniai variantai, kada reikėtų įtarti mastocitozė ir atlikti išsamesnius tyrimus (pvz., Akin C, Valent P, 2014). Ryškesniu šriftu išskiriamos mastocitozei būdingiausios klinikinės situacijos.

# Pulmonologija ir alergologija

- Vaikas arba suaugęs pacientas su hiperpigmentinėmis papulėmis. Tai gali būti makulopapulinė odos mastocitozė (vaikams arba suaugusiesiems) arba mastocitoma (vaikams). Taip gali pasireikšti OM arba SM.
- Suaugęs asmuo, kuriam pasikartoja į anafilaksiją arba generalizuotą alerginę reakciją panašūs epizodai – tai yra odos paraudimas, sinkopė arba presinkopė, hipotenzija, pilvo skausmai, viduriavimas. Paprastai nebūna dilgėlinės ir angioedemos. Tyrimais nenustatomas alerginis veiksnys.
- Suaugęs asmuo, kuriam po plėviasparnio vabzdžio įgėlimo pasireiškė anafilaksinė reakcija su hipotenzija.
- Suaugęs asmuo, kuriam yra kraujo formulės pokyčiai, splenomegalija, nuovargis, svorio kritimas, kuriam yra indikacijos hematologiniam ištyrimui.
- Suaugęs asmuo, kuriam yra kaulų sklerotiniai arba liziniai pokyčiai, panašūs į metastazes.
- Suaugęs asmuo, kuriam yra nespecifiniai virškinamojo trakto simptomai, panašūs į kolitą, ir neaiškios kilmės splenomegalija.
- Suaugęs asmuo, kuriam nustatyta kraujo liga (dažniausiai mielodisplastinis sindromas, ūminė mieloleukemija arba lėtinė mielomonocitinė leukemija) ir KIT mutacija.
- Suaugęs asmuo, kuriam nustatyta osteoporozė ir patologiniai kaulų lūžiai, ypač nesant osteoporozės rizikos veiksnių.

## GYDYMO PRINCIPAI

Mastocitozės gydymas skiriasi priklausomai nuo ligos formos ir simptomų. Nėra gydymo, kuris pakeistų natūralią OM eigą. Esant OM, rekomenduojama kasmetinė paciento stebėseną, įvertinant paciento nusiskundimus, odos išbėrimų dinamiką, triptazės kiekį, bendrąjį kraujo tyrimą, kepenų fermentus (taip pat ir šarminę fosfatazę) ir elektrolitus. SM – tai hematologinė liga, kurios gydymas ir stebėseną priklauso nuo nustatytos SM formos.

Apibendrinant, mastocitozės gydymas yra pakopinis ir susideda iš:

- Konsultavimo ir mokymo.
- Mastocitų išskiriamų mediatorių sukeltamų simptomų mažinimo.
- Citoredukcinio gydymo.

Jei nėra jokių simptomų, atliekamas paciento artimųjų mokymas, kaip atpažinti simptomus ir kokį gydymą taikyti atsiradus ūminėms būklėms. Be medikamentinio gydymo, simptomų kontrolei pacientai taip pat turėtų būti perspėti vengti simptomus provokuojamųjų veiksnių, kurie nustatomi kiekvienam pacientui individualiai.

Jei vargina odos išbėrimai ir simptomai – rekomen-

duojama tepti drėkinamuosius kremus ir išbėrimų vietoje vidutinio stiprumo gliukokortikoidų kremus. Dažnai išbėrimams sumažinti taikoma lokali arba sisteminė fototerapija – ultravioletiniai B spinduliai 311 nm, taip pat rekomenduojami H<sub>1</sub> antihistamininiai vaistai.

Sergantieji mastocitoze dėl padidėjusios anafilaksijos rizikos su savimi turi nešiotis adrenalino automatinį švirkštiklį ir mokėti juo naudotis. Vienu metu turėtų būti išrašomi du adrenalino automatiniai švirkštikliai. Esant įrodytai alergijai plėviasparnių vabzdžių nuodams, indikuotina specifinė imunoterapija.

SM diagnozę patvirtina ir gydo gydytojai hematologai, odos formos – gydytojai dermatologai ir gydytojai alergologai ir klinikiniai imunologai. Gydytojas alergologas ir klinikinis imunologas visoms mastocitozės formoms gali parinkti optimaliausią PL išskiriamų mediatorių blokavimo strategiją, parengti planą mažinti sisteminių alerginių reakcijų riziką naudojant vaistus arba išvengti letalių reakcijų nuo vabzdžių nuodų.

## APIBENDRINIMAS

Mastocitozė yra reta liga, galinti pasireikšti vaikams ir suaugusiesiems asmenims. Priklausomai nuo pasireiškimo amžiaus ir išplitimo, jos prognozė skiriasi.

Esant įprastiems ir pasikartojantiems PL aktyvacijos sukeltiems simptomams nenustačius alerginio veiksnio arba jeigu sisteminės anafilaksinės reakcijos (ypač be odos pažeidimo) buvo po vabzdžio įgėlimo, rekomenduojama tirti dėl mastocitozės.

Atlikus odos biopsiją (esant pažeidimų odoje) ir patvirtinus mastocitozę, suaugusį pacientą siūsti gydytojui alergologui ir klinikiniam imunologui (dėl anafilaksijos rizikos veiksnių išaiškinimo, specifinių alergijų ištyrimo, triptazės tyrimo) ir gydytojui hematologui (dėl sisteminės mastocitozės). Esant odos formai, galimas dermatologinis lokalus gydymas; esant kitiems simptomams, skiriamas gydymas pagal poreikį. Nustačius mastocitozę, pacientui būtina skirti ir apmokyti naudotis adrenalino automatinio švirkštikliu, aptarti ir raštu pateikti pirmosios pagalbos rekomendacijas įvykus anafilaksijai. Pacientus reikia reguliariai konsultuoti ir tirti dėl galimo ligos vystymosi į SM, osteoporozės, alerginių reakcijų arba organų disfunkcijos atsiradimo.

## LITERATŪRA

1. Valent P, Akin C, Gleixner KV, Wolfgang R, Sperr WR, Reiter A, et al. Multidisciplinary Challenges in Mastocytosis and How to Address with Personalized Medicine Approaches. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):2976.
2. Valent P, Akin C, Arock M, Brockow K, Butterfield JH, Carter MC, et al. Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;157:215–25.
3. Valent P. Mast cell activation syndromes: definition and classification. *Allergy.* 2013;68:417–24.

4. **Valent P, Akin C, Bonadonna P, Hartmann K, Brockow K, Niedoszytko M, et al.** Proposed Diagnostic Algorithm for Patients with Suspected Mast Cell Activation Syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019;7:1125–33.
5. **Valent P.** Mast cell activation syndromes: definition and classification. *Allergy.* 2013;68:417–24.
6. **Bonadonna P, Pagani M, Aberer W, Bilo MB, Brockow K, Oude Elberink H, et al.** Drug hypersensitivity in clonal mast cell disorders: ENDA/EAACI position paper. *Allergy.* 2015;70:755–63.
7. **Stellato C, Cirillo R, Amato P, Casolaro V, Amato P, Casolaro V, Mastronardi P, et al.** Human basophil/mast cell releasability. *Anesthesiology.* 1992;77:932–940.
8. **Blunk JA, Schmelz M, Zeck S, Skov P, Likar R, Koppert W.** Opioid-induced mast cell activation and vascular responses is not mediated by mu-opioid receptor: an in vivo microdialysis study in human skin. *Anesth Analg.* 2004;98:364–70.
9. **Sanchez-Matas I, Matito-Bernechea A, Gonzales de Olano D.** Prevalence of hypersensitivity reactions to nonsteroidal antiinflammatory drugs in 212 patients with mastocytosis in Spain. *Allergy.* 2009;64(90):574–5.
10. **Stoevesandt J, Sturm GJ, Bonadonna P, Oude Elberink JNG, Trautmann A.** Risk factors and indicators of severe systemic insect sting reactions. *Allergy.* 2020;75(3):535–45.
11. **Akin C, Valent P.** Diagnostic criteria and classification of mastocytosis in 2014. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2014;34(2):207–14.
12. **Hartmann K, Escribano L, Grattan C, Brockow K, Carter MC, Alvarez-Twose I, et al.** Cutaneous manifestations in patients with mastocytosis: Consensus report of the European Competence Network on Mastocytosis; the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; and the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(1):35–45.
13. **Platzgummer S, Bizzaro N, Bilò MB, Pravettoni V, Cecchi L, Sargentini V, et al.** Recommendations for the Use of Tryptase in the Diagnosis of Anaphylaxis and Clonal Mastcell Disorders. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2020;52(2):51–61.
14. **Catherine R.** Weiler. Mast cell activation syndrome: tools for diagnosis and differential diagnosis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020;8(2): 498–506.
15. **Theoharides TC, Valent P, Akin C.** Mast cells, mastocytosis, and related disorders. *N Eng J Med.* 2015;373;2:163–72.
16. **Theoharides TC, Tsilioni I, Ren H.** Recent advances in our understanding of mast cell activation – or should it be mast cell mediator disorders? *Expert Rev Clin Immunol.* 2019;15(6):639–56.
17. **Coltoff A, Mascarenhas J.** Relevant updates in systemic mastocytosis. *Leuk Res.* 2019;81:10–8.
18. **Pardanani A.** Systemic mastocytosis in adults: 2021 Update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2021;1;96(4):508–25.
19. **Gotlib J, George TI, Carter MC, Austen KF, Bochner B, Dwyer DE, et al.** Proceedings from the Inaugural American Initiative in Mast Cell Diseases (AIM) Investigator Conference. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(6):2043–52.
20. **Weiler CR, Austen KF, Akin C, Barkoff MS, Bernstein JA, Bonadonna P, et al.** AAAAI Mast Cell Disorders Committee Work Group Report: Mast cell activation syndrome (MCAS) diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(4):883–96.
21. **Fuchs D, Kilbertus A, Kofler K, von Bubnoff N, Shoumariyeh K, Zanotti R, et al.** Scoring the Risk of Having Systemic Mastocytosis in Adult Patients with Mastocytosis in the Skin. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(4):1705–12.
22. **Li, Z.** New Insights into the Pathogenesis of Systemic Mastocytosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4900.
23. **Valent P, Akin C, Nedoszytko B, Bonadonna P, Hartmann K, Nedoszytko M, et al.** Diagnosis, Classification and Management of Mast Cell Activation Syndromes (MCAS) in the Era of Personalized Medicine. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9030.
24. **Bonadonna P, Brockow K, Nedoszytko M, Elberink HO, Akin C, Nedoszytko B, et al.** COVID-19 Vaccination in Mastocytosis: Recommendations of the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM) and American Initiative in Mast Cell Diseases (AIM). *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(6):2139–44.
25. **Černiauskas K, Chomičienė A, Linauskienė K, Blažienė A, Malinauskienė L.** Alergija plėviasiarnių vabzdžių nuodams. Paciento ištyrimas ir gydymas. Mokomoji knyga. Vilniaus universitetas, Akademinei leidyba, 2020, 87 psl.
26. **Malinauskienė L, Bylaitė-Bučinskienė M, Žilėnaitė E, Černiauskas K, Chomičienė A, Staikūnienė J, Blažienė A, Gailiūtė N.** Mastocitozės diagnostikos ir gydymo rekomendacijos. Metodinės rekomendacijos. Vilniaus universitetas, Akademinei leidyba, 2021, 70 psl.



## Churg-Strauss sindromas

### CHURG-STRAUSS SYNDROME

KRISTINA BIEKŠIENĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Churg-Strauss sindromas, kitaip vadinamas eozinofiline granulimotoze su poliangitu, yra reta patologija, tačiau gali pažeisti bet kurią organų sistemą. Straipsnyje pateikiami pagrindiniai šio sindromo patologijos, diagnostikos ir gydymo aspektai.

**Reikšminiai žodžiai:** Churg-Strauss sindromas, eozinofilinė granulimotozė su poliangitu, eozinofilai, vaskulitas.

**Summary.** Churg-Strauss syndrome, otherwise known as eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, is a rare pathology, but it can affect any organ system. The article presents the main aspects of the pathology, diagnosis, and treatment of this syndrome.

**Keywords:** Churg-Strauss syndrome, eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, eosinophils, vasculitis.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1015>

### IVADAS

Patologai Jacob Churg ir Lotte Strauss 1951 m. aprašė klinikinę sindromą, apimančią sunkią astmą, karščiavimą ir hipereozinofiliją kartu su „kraujagyslių pokyčių įvairiose organų sistemose“ požymiais devynioms moterims ir keturiems vyrams [1]. Jie šiuos patologinius pokyčius įvardijo kaip alerginį angitą su granulimotoze, o dabar įvardijama kaip 2 tipo eozinofilinis uždegimas ir vaskulitas. Netrukus šis sindromas pradėtas vadinti Churg-Strauss sindromu. Per pastaruosius daugiau nei 70 metų didėjo šio unikalaus kaprizingo sindromo pažinimas, pagėrėjo išgyvenimo ir baigčių rezultatai. Norint geriau išreikšti šio sindromo patologinius pokyčius, pradėtas vartoti terminas eozinofilinė granulimotozė su poliangitu (EGPA) [2].

### APIBRĖŽIMAS

2012 m. tarptautinėje Chapel Hill Consensus konferencijoje peržiūrėta vaskulitų nomenklatūra. EGPA apibrėžiama kaip eozinofilinis granulimatozinis uždegimas, dažnai apimantis kvėpavimo sistemą, kartu su vidutinių ir smulkiųjų kraujagyslių nekrotizuojančiu vaskulitu, astma ir eozinofilija. EGPA yra klasifikuojama kaip smulkių ir vidutinių kraujagyslių vaskulitas, kurio dažnai nebūna pradinėse ligos stadijose. Dažniausiai pažeidžiami organai yra plaučiai ir oda, tačiau sergant EGPA gali būti pažeista bet kuri organų sistema, įskaitant širdies ir kraujagyslių, gastrointestininę, inkstų ir centrinę nervų sistemas [3].

### EPIDEMIOLOGIJA

EGPA epidemiologija išlieka neaiški dėl su EGPA susijusių diagnozių. EGPA yra reta liga, kuria serga apie 6–20 asmenų iš 1 000 000 suaugusiųjų. Europoje sergamumas svyruoja nuo 10,7 iki 14,0 atvejų/milijonui gyventojų. Jungtinėse Amerikos Valstijose – vidutiniškai 18,0 atvejų/milijonui gyventojų. Didžiausias sergamumas skelbiamas Australijoje – 22,3 atvejai/milijonui gyventojų. Iš trijų su antikūnais prieš neutrofilų citoplazmos antigenus (ANCA) susijusių vaskulitų – EGPA nustatomas rečiausiai. Pirmųjų EGPA simptomų atsiradimas svyruoja nuo 15 iki 70 metų amžiaus. Tačiau vidutinis amžius, kuomet nustoma diagnozė, yra apie 55 (± 14) metai. Laikas nuo simptomų pradžios iki diagnozės nustatymo yra apie 49,7 mėn. EGPA retai pasireiškia vyresniems nei 65 metų amžiaus asmenims, vaikams ir paaugliams. Jei ši liga diagnozuojama šiose amžiaus grupėse, jos eiga būna agresyvesnė, dažnai pažeidžiami plaučiai ir širdis. Vyrai ir moterys šia patologija serga vienodai dažnai, taip pat nėra etninių skirtumų [4–14].

### PATOGENEZĖ

Tiksli EGPA patogenė nežinoma. ANCA sergant EGPA nustatomas 40–60 proc. pacientų, nors EGPA klasifikuojamas kaip ANCA teigiamas vaskulitas. Tačiau nežinoma, ar ANCA turi patogeninį vaidmenį EGPA, ar jie tik atspindi EGPA išraiškos spektrą.

EGPA charakterizuojamas kai kuriais imuninės sistemos pokyčiais:

- Alergija (alerginis rinitas, astma, teigiami odos dūrio mėginiai (ODM)) nurodo išreikštą Th2 imuninį atsaką.
- Plaučių angiocentrinė granulimotozė nurodo padidėjusį Th1 atsaką.
- Kraujyje CD4 + CD25 + T ląstelės (Treg) gamina interleukiną (IL) 10, turintį įtakos, kuriam sergančiajam astma ir lėtine eozinofiline pneumonija išsivystys aktyvi EGPA.
- Sutrikusi eozinofilų funkcija dėl padidėjusio eozinofilų įtraukimo dėl Th2 citokinų ir sumažėjusios eozinofilų apoptozės.

- Humoralinio imuniteto sutrikimas hipergamaglobulinemija E.

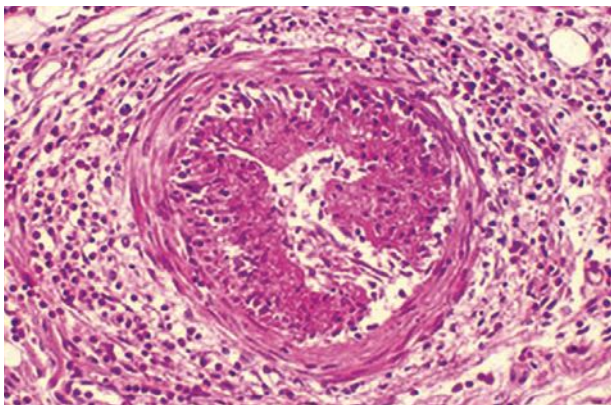
Genetiniai veiksniai HLA-DRB1\*07 ir HLA-DRB4 buvo dažnesni sergantiesiems EGPA, o HLA-DRB4 koreliavo su vaskulito pasireiškimu [15–18].

## ETIOLOGIJA

Etiologija nežinoma. Kai kurių vaistų vartojimas siejamas su EGPA atsiradimu. Tai leukotrienų receptorių antagonistai, įkvepiamieji gliukokortikoidai (IGK), omalizumabas. Tačiau panašu, kad jie labiau slepia ligą, nei būna EGPA priežastis [19–21]. Retas, į EGPA panašus vaskulitas siejamas su kokaino vartojimu. EGPA diagnozė pacientams, kurie vartoja kokainą, yra komplikauta, nes ūmi arba lėtinė eozinofilinė pneumonija gali pasireikšti ir dėl kokaino toksiškumo. ANCA nustatoma daugumai pacientų, kuriems dėl kokaino vartojimo pasireiškia nosies pertvaros pažeidimai [22, 23].

## PATOLOGIJA

Pagrindiniai histopatologiniai EGPA pokyčiai, matomi bet kuriame pažeistame organe, yra: eozinofiliniai infiltratai, nekrozės plotai, intersticinės ir perivaskulinės granulomos, eozinofilinis didelių ląstelių vaskulitas (1 pav.). Pažeistuose organuose būna ne visi požymiai, ypač jei taikytas gydymas. Taip pat histopatologiniai požymiai gali skirtis priklausomai nuo ligos stadijos. Esant prevaskulitinei stadijai, gali būti audinių infiltracija eozinofilais be vaskulito. Vaskulito fazėje – nedestrukcinė kraujagyslių sienelių infiltracija nustatoma dažniau nei nekrotizuojantis vaskulitas. Povaskulitinės fazės laikotarpiu sugiję kraujagyslių pažeidimai panašūs į organizuotus trombus, tačiau yra susiję su dideliu elastinės dalies sunaikinimu. Šioje fazėje eozinofilinės infiltracijos gali ir nebūti [24, 25].



1 pav. EGPA histologiniai pokyčiai [adaptuota pagal 26]

## KLINIKINIAI POŽYMIAI IR LIGOS SAVITUMAI

Dažniausiai pažeidžiami organai yra plaučiai ir oda. EGPA gali paveikti bet kurių organų sistemą. Ekstrapulmoninis vaskulitas yra sergamumo ir mirtingumo

predikacinis veiksnys. EGPA klinicinei eigai būdingos trys fazės, kurias ne visada lengva atskirti (1 lentelė).

1 lentelė. EGPA klinikinės eigos fazės [27]

<b>Prodrominė fazė</b>	Pasireiškia 20–30 gyvenimo metais Būdinga astma, alerginis rinitas, lėtinis rinosinusitas su arba be nosies polipozės
<b>Eozinofilinė fazė</b>	Kraujo eozinofilija, eozinofiliniai infiltratai su arba be granulomų, daugelyje organų, o ypač viršutiniuose kvėpavimo takuose, plaučiuose ir virškinamajame trakte
<b>Vaskulito fazė</b>	Gyvybei pavojingas sisteminis vidutinių ir smulkių kraujagyslių vaskulitas ir ekstravaskulinė granulomatozė, kliniškai pasireiškiantys periferiniuose nervuose (dauginis mononeuritas arba polineuropatija), inkstuose (nekrotizuojantis glomerulonefritas) ir odoje (purpura)

Simptomai atsiranda nebūtinai tokiu eiliškumu, kaip nurodyta lentelėje. Jie gali persidengti, nors astma ir sinusitas arba rinitas labai retai atsiranda po vaskulito pasireiškimo. EGPA yra sisteminė liga, bet, nors ir labai retai, gali pasireikšti tik vieno organo pažeidimu.

> 90 proc. pacientų iš pradžių serga astma, kuri atideda EGPA diagnozę 8–12 metų. Astma dažnai būna sunki ir sunkiai gydoma. EGPA įtariamas pacientams, kurių astma sunkiai kontroliuojama, dažnai reikia ilgų geriamųjų gliukokortikoidų (GGK) kursų astmos kontrolei pasiekti. Ilgas astmos gydymas GGK iš dalies arba visiškai nuslopina EGPA klinikinius simptomus. Klasikiniu atveju astma tampa sunki prieš eozinofilinės audinių infiltracijos ir vaskulito išsivystymą. Prasidėjus vaskulito fazei astma sunkėja, dažnėja paūmėjimai. Kiti ankstyvieji požymiai yra karščiavimas, svorio kritimas, nuovargis, mialgija.

Gali būti nustatomi ir kiti plaučių pažeidimai: 50–70 proc. pacientų nustatomi eozinofiliniai infiltratai plaučiuose, eozinofilinis skystis pleuroje, židiniai su kavitacija. Kraujavimas į alveoles būna retai ir susijęs su ANCA teigiamu (ANCA+) EGPA. Venų trombinė embolija nustatoma apie 8 proc. atvejų.

Ausų, nosies, gerklės pažeidimo požymiai gana dažni. 50–80 proc. pacientų būna alerginis rinitas, lėtinis sinusitas ir polipozė, ašarų ir seilių liaukų pažeidimas, vidurinis otitas ir, retai, galvos nervų pažeidimas [27].

## Širdies pažeidimas

Širdies pažeidimas nustatomas apie 28 proc. pacientų. Tai viena sunkiausių EGPA formų. Širdies pažeidimas sąlygoja apie pusę su EGPA susijusių mirčių ir dažniau pasitaiko esant dideliame eozinofilų skaičiui kraujyje. Subklinikinis širdies pažeidimas gali būti nedideliu mastu, bet tai yra labai svarbu, nes širdies pažeidimas yra nepriklausomas sergamumo ir mirtingumo žymuo. Eiga gali būti variabili – nuo besimptomės formos iki žaibinio širdies nepakankamumo, kardiomiopatijos, miokardito, perikardito. Troponinas ir širdies ma-

# Pulmonologija ir alergologija

gnetinio rezonanso tyrimas yra naudingi atrankai, kai elektrokardiograma (EKG) arba echokardiografija būna be pokyčių. Kiti širdies pažeidimo požymiai gali būti vožtuvų nepakankamumas, intraskilveliniai trombai, endomiokarditas, aritmijos dėl miokardo fibrozės. Tai pat sergantieji EGPA turi padidėjusią riziką greitesniam aterosklerozės vystymuisi dėl sisteminio uždegimo ir gydymo gliukokortikoidais [27].

## Nervų sistemos pažeidimas

Žymus vaskulito fazės požymis yra neuropatija, kuria serga 50–75 proc. EGPA pacientų.

Pradžioje jutimo sutrikimai pasireiškia periferine neuropatija, kai pažeidžiamos bent dvi atskiros nervų sritys (daugybinė mononeuropatija, angl. *mononeuritis multiplex*) ir pasireiškia skausmu, sustingimu, silpnumu, parastezija. Elektrofiziologiniai tyrimai parodė, kad dėl neuropatijos pažeidžiami aksonai, peronealiniai, blauzdikaulio, alkūnkaulio ir medialiniai nervai. Negydant pažeidimas gali progresuoti į simetrinę arba asimetrinę polineuropatiją, atsirasti raumenų atrofija. Sveikimas ilgas, jei iš vis pavyksta pasveikti, sukelia didelį diskomfortą ir ligotumą. Centrinės nervų sistemos pažeidimas gali sąlygoti subarachnoidinį kraujavimą, kraujavimą į smegenis, insultą, galvos nervų paralyžių, kortikalinį aklumą.

Širdies ir nervų sistemos pažeidimas dažniau pasireiškia pacientams, kurių ANCA neigiamas [26].

## Inkstų pažeidimas

Daugeliui pacientų su inkstų funkcijos nepakankamumu nustatomi teigiami MPO (mieloperoksidazė) ANCA, o histologiškai matomas nekrotizuojantis psmėnulinis glomerulonefritas. Inkstų pažeidimas, apibūrinamas kaip proteinurija  $\geq 1$  g/d., mikroskopinė hematurija ir (arba) vaskulitas inkstų biopsijoje, skirtingų šaltinių duomenimis nustatomas nuo 26 iki 43 proc. EGPA atvejų. Retais atvejais gali būti viepusė arba abipusė obstrukcinė uropatija. Inkstų pažeidimas paprastai dažniau pasireiškia ANCA teigiamiems pacientams. ANCA neigiamiems pacientams histologinis membraninės nefropatijos ir membranoproliferacinio glomerulonefrito vaizdas gali būti skirtingas [27].

## Odos pažeidimas

Odos pažeidimas yra vienas dažniausių vaskulito fazės požymių. Dažnai EGPA diagnozė nustatoma, kai pasireiškia odos pažeidimo požymiai. Nustatoma maždaug 50–70 proc. pacientų.

Odos pažeidimas pasireiškia purpura ir petechijomis (išsiplečiančiomis iki ekchimozės), mazgeliais tiesiamuosiuose rankų paviršiuose, kojose, bet gali būti ir urtikarija, išopėjimai, rausvai mėlyna oda (lot. *livedo reticularis*).

Odos biopsijose matomos ekstravaskulinės granulomos su nekroze ir eozinofilais [27].

## Kitų sistemų pažeidimas

Akių pažeidimas gali komplikuotis į centrinės tinklainės arterijos arba venos okliuziją, išeminę optinę neuropatiją, junginės mazgus ir orbitalinį miozitą. Pacientams gali pasireikšti virškinamojo trakto eozinofilinė infiltracija su eozinofiliniu gastroenteritu ir pilvo skausmais (59 proc.), diarėja (33 proc.), kraujavimu (18 proc.). Kolitas gali būti prieš arba sutapti su vaskulito faze. Kaulų-raumenų sistemos pažeidimas pasireiškia mialgija, migruojančia poliartralgija, artritu, miozitu. 40–50 proc. EGPA atvejų pasireiškia vaskulito fazėje.

## 2 lentelė. EGPA klinikinių požymių pasireiškimo dažnis [27]

Klinikinis požymis	Dažnis (proc.)
Astma	91–100
Plaučių infiltratai	65–91
Neuropatija	55–72
Ausys, nosis, gerklė	48–75
Oda	40–52
Širdis	27–35
Inkstai	27
Virškinamasis traktas	23–32
Centrinė nervų sistema	5–9

## 3 lentelė. Klinikiniai ir genetiniai EGPA savitumai, priklausomai nuo ANCA [27]

	ANCA- EGPA	ANCA+ EGPA
<b>Bendrieji klinikiniai simptomai</b>	Svorio kritimas, karščiavimas, artralgija, mialgija	
<b>Genetiniai pokyčiai</b>	IL-5 / IRF1, GPA33 (IL-10)	HLA-DQ, HLA-DR
<b>Organų sistemų pažeidimas</b>	Centrinės nervų sistemos	Centrinės nervų sistemos
	Astma, nosies-sinusų	Kraujavimas į alveoles
	Širdies	Astma, nosies-sinusų
	Virškinamojo trakto	Inkstų
	Purpura	Virškinamojo trakto
Periferinė neuropatija	Biopsinėje medžiagoje – vaskulito požymiai	

ANCA – antikūnai prieš neutrofilų citoplazmos antigenus; EGPA – eozinofilinė granulomatozė su poliangitu; GPA33 (IL-10) – glikoproteinas A33 (interleukinas 10); HLA-DQ – žmogaus leukocitų antigenas – DQ; HLA-DR – žmogaus leukocitų antigenas – DR; IL-5 / IRF1 interleukinas 5 / interferoną reguliuojamasis veiksnys 1.

## 4 lentelė. EGPA diferencinė diagnostika [26]

Eozinofilinė pneumonija
Eozinofilinė astma
Hipereozinofilinis sindromas
Idiopatinė lėtinė eozinofilinė pneumonija
Alerginė bronchopulmoninė aspergiliozė
Vaistų sukelta eozinofilija
Infekcija (parazitai, grybai, virusai, tuberkuliozė)
Paraneoplastinė eozinofilija

Limfmazgių pažeidimas pasireiškia eozinofiline limfadenopatija ir nustatomas 30–40 proc. EGPA pacientų, dažniausiai kaklo, pažastų srityse [27]. EGPA klinikinių požymių pasireiškimo dažnis pateikiamas 2 lentelėje.

ANCA+ ir ANCA neigiamo (ANCA–) EGPA dichotomija, eozinofilinė infiltracija arba sisteminis vaskulitas keičia klinikinį vaizdą, diagnozę, stebėseną ir gydymą bei jo rezultatus. Klinikiniai ir genetiniai ANCA– ir ANCA+ EGPA savitumai pateikiami 3 lentelėje. EGPA diferencinė diagnostika pateikiama 4 lentelėje.

## DIAGNOSTIKA

Nustatant EGPA diagnozę, pirmiausia reikėtų atnesti infekcinius susirgimus ir galimus naujai pradėtų vartoti vaistų sukeltus pažeidimus (4 lentelė). Vėliau rekomenduojama atlikti kraujo tyrimus: bendrąjį kraujo tyrimą, ANCA, triptazę, vitamino B12 kiekį, eritrocitų nusėdimo greitį, C reaktyvinį baltymą, reumatoidinį veiksnių, antinuklearinius antikūnus (ANA), imunoglobuliną E (IgE). Plaučių pažeidimui įvertinti atliekama plaučių rentgenograma ir kompiuterinė tomograma, ištiriama plaučių funkcija. Biopsijos vieta ir reikalingumas nustatomi individualiai kiekvienu atveju. Dažniausiai atliekama odos, nervų, raumenų biopsija, bet galima atlikti ir endomiokardo, inkstų, virškinamojo trakto audinių biopsiją. Atskirų organų sistemų pažeidimui įvertinti atliekama EKG, širdies echoskopija, smegenų natriuretino peptido koncentracija (BNP) arba NT-prosmegenų natriuretino peptido koncentracija (NT-proBNP) kraujyje, troponino I koncentracija kraujyje, virškinamojo trakto radiologiniai ir endoskopiniai tyrimai, inkstų funkcijos ir šlapimo tyrimai. Papildomai gali būti atlikta elektromiografija ir nervų laidumo tyrimai [26, 27].

5 lentelėje pateikiami skirtingų draugijų – Amerikos Reumatologijos koledžo (angl. *American College of Rheumatology*, ACR) ir Lanham – EGPA diagnostiniai kriterijai.

### 5 lentelė. EGPA diagnostiniai kriterijai [28]

Amerikos Reumatologijos koledžo (angl. <i>American College of Rheumatology</i> , ACR) kriterijai	Lanham kriterijai
1. Astma 2. Eozinofilų > 10 proc. leukocitų 3. Mononeuropatija (įskaitant ir daugybę) arba polineuropatija 4. Migruojantys arba išnykstantys radiologiškai nustatomi plaučių infiltratai 5. Prienosinių ančių patologija 6. Biopsinėje medžiagoje ekstravaskulinis eozinofilų susikaupimas	1. Astma 2. Eozinofilija > 1 500 ląst./μl 3. Sisteminis vaskulitas, apimantis 2 arba daugiau ekstrapulmoninius organus
Esant ≥ 4 kriterijams, EGPA diagnozės jautrumas 85 proc., specifiskumas – 99,7 proc.	Visi trys kriterijai

Europos respiratologų draugijos (angl. *European Respiratory Society*, ERS) EGPA diagnostiniai kriterijai [29]: Astma plius eozinofilija (> 1,0 × 10<sup>9</sup>/l ir (arba) > 10 proc. leukocitų) ir bent du kriterijai iš žemiau pateiktų EGPA požymių:

1. Biopsinėje medžiagoje matomas eozinofilinis vaskulitas arba perivaskulinė eozinofilinė infiltracija, arba eozinofilų gausus granulomatozinis uždegimas.
2. Neuropatija (mononeuropatija arba polineuropatija; motorinis deficitas arba nervo laidumo sutrikimas).
3. Plaučių migruojantys infiltratai.
4. Sinusų-nosies patologija.
5. Kardiomiopatija (echokardiografija arba magnetinio rezonanso tomografija).
6. Glomerulonefritas (hematurija, proteinurija).
7. Kraujavimas į alveoles (bronchoalevolinis lavžas).
8. Palpuojama purpura.
9. Teigiami MPO ANCA arba PR3 (proteinazė 3) ANCA.

EGPA 2022 ACR / Europos reumatologų draugijų aljanso klasifikacijos kriterijai. Šie kriterijai taikomi EGPA diagnozei patvirtinti, kuomet yra nustatytas vidutinių-smulkiųjų kraujagyslių vaskulitas ir paneigtos vaskulitą imituojančios alternatyvios diagnozės.

Klinikiniai kriterijai:

1. Obstrukcinė kvėpavimo takų liga +3.
2. Nosies polipai +3.
3. Dauginis mononeuritas +1.

Labaratoriniai kriterijai:

1. Kraujo eozinofilų kiekis > 1 × 10<sup>9</sup>/l +5.
2. Biopsijoje ekstravaskulinis eozinofilinis uždegimas +2.
3. Teigiami c-ANCA arba antiproteinazės-3 (anti-PR3) antikūnai –3.
4. Hematurija –1.

EGPA diagnozė nustatoma, kai balų skaičius yra ≥ 6 [30].

## GYDYMAS

EGPA pasižymi įvairiomis klinikinėmis savybėmis, apimančiomis astmą, alerginį rinitą, periferinę ir audinių eozinofiliją, vaskulitą. Kiekvienos patologijos atsakas į gydymą gali būti skirtingas, todėl ir gydymas yra paremtas paciento ligos požymiais ir sunkumu. Žemiau pateikiamos imunosupresinio gydymo rekomendacijos. Astmos, alerginio rinito gydymas taip pat yra svarbūs [31].

### Aktyvi sunki EGPA. Remisijos indukcija

Sergantiesiems aktyvia sunkia EGPA, remisijos indukcijai gali būti skiriama pulsterapija intraveniniais gliukokortikoidais arba didelėmis GGK dozėmis, ci-

# Pulmonologija ir alergologija

klofosfamidū arba rituksimabu. Nepakanka duomenų, kas yra geriau – pulsterapija ar didelės GGK dozės. Bet kuriuo atveju, gliukokortikoidai turėtų būti derinami su negliukokortikoidiniais imunosupresiniais preparatais, pvz., ciklofosfamidū arba rituksimabu. Ciklofosfamidus EGPA remisijos indukcijai dažniau naudojamas pacientams su širdies pažeidimu ir esant ANCA– EGPA ir sergantiems sunkiu neurologiniu, gastrointestalininiu pažeidimu. Rituksimabas gali būti svarstomas pacientams, kuriems yra ANCA+ EGPA, aktyvus glomerulonefritas, anksčiau gydyti ciklofosfamidū, arba tiems, kuriems yra lytinių liaukų pažeidimo rizika dėl ciklofosfamido toksiškumo [31].

## Remisijos indukcija, esant aktyviai nesunkiai EGPA

Klinikinė aktyvios, nesunkios EGPA

išraiška apima astmą, sinusitą ir nesunkų vaskulitą. Gausybė imunosupresinių vaistų kartu su gliukokortikoidais gali būti skiriami šiai formai gydyti. Tačiau ekspertai rekomenduoja aktyvios nesunkios EGPA gydymą pradėti nuo mepolizumabo ir gliukokortikoidų derinio, o ne nuo metotreksato, azatioprino arba mofetilio mikofenolato ir gliukokortikoidų derinio. Mepolizumabas rekomenduojamas kaip pirmojo pasirinkimo vaistas, nes jo veiksmingumas įrodytas atsitiktinės atrankos klinikiniuose tyrimuose, gydant nesunkią EGPA. Nepakanka duomenų, kad būtų galima pasirinkti vieną iš šių vaistų (metotreksatas, azatioprinas arba mikofenolato mofetilis) prieš kitus, todėl pasirinkimą turėtų lemti individualūs paciento veiksniai.

Taip pat ekspertai rekomenduoja, kad metotreksatas, azatioprinas arba mikofenolato mofetilis būtų skiriami kartu su gliukokortikoidais, tam, kad būtų sumažintas gliukokortikoidų toksiškumas. Gydymas monoterapija gliukokortikoidais gali būti svarstomas esant lengvai astmai, alergijos simptomams, nėštumui arba kitose individualiose situacijose [31].

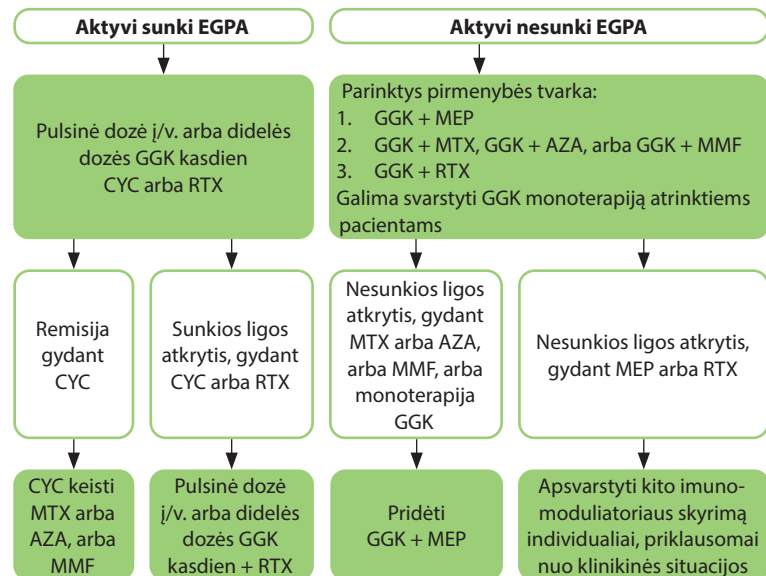
## Remisijos palaikymas

Kai sergantieji sunkia EGPA pasiekia remisiją, remisijai palaikyti ekspertų rekomenduojama skirti metotreksatą, azatiopriną arba mikofenolato mofetilį, bet ne rituksimabą arba mepolizumabą. Gydymo gliukokortikoidais trukmė sprendžiama pagal paciento klinikinę būklę individualiai [31].

## Ligos atkryčio gydymas

Pacientams, patyrusiems sunkios EGPA atkrytį, tolesnis rekomenduojamas gydymas yra:

1. Jei remisija sėkmingai pasiekta ciklofosfamidū,



2 pav. EGPA gydymo algoritmas [31]

AZA – azatioprinas; CYC – ciklofosfamidus; GGK – geriamieji gliukokortikoidai; i/v. – į veną; MEP – mepolizumabas; MMF – mofetilio mikofenolatas; RTX – rituksimabas.

atkryčiui gydyti rekomenduojamas rituksimabas, o ne pakartotinas ciklofosfamido skyrimas.

2. Jei remisija sėkmingai pasiekta rituksimabu, atkryčiui gydyti rekomenduojamas rituksimabas, o ne ciklofosfamidus.

Pacientams, kurie patyrė nesunkios EGPA atkrytį gydant metotreksatu, azatioprinu, mikofenolato mofetiliu arba mažomis gliukokortikoidų dozėmis, rekomenduojama pridėti mepolizumabą, o ne keisti į kitą vaistą [31].

EGPA gydymo algoritmas pateikiamas 2 paveiksle.

## APIBENDRINIMAS

Churg-Strauss sindromas – tai reta ir nevienalytė patologija, galinti pažeisti bet kurią organų sistemą, susijusi su dideliu sergamumu. Vertinant genetinę predispoziciją, imuninius žymenis ir atsaką į imunoterapiją, išskiriami bent du EGPA tipai. Dar ne visiškai aišku, kas slypi už hipereozinofilijos, toksinės eozinofilinės audinių infiltracijos ir vaskulito. Diagnozuojant EGPA vis dar naudojami nespecifiniai biožymenys. Nors gliukokortikoidai ir kiti imunosupresantai paprastai yra veiksmingi remisijai sukelti, jie yra susiję su reikšmingais nepageidaujama poveikiais. Į IL-5 nukreipta biologinė terapija yra veiksminga ir daug žadanti. Būsime moksliniai, klinikiniai tyrimai praplės žinias apie anti-IL-5 terapijos skyrimą ir individualizuotą gydymą, atsižvelgiant į numanomus EGPA tipus.

## LITERATŪRA

1. Churg J, Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis, and periarteritis nodosa. Am J Pathol. 1951; 27:277–301.
2. de Campos FPE, Geller SA. Churg-Strauss Syndrome: a syndrome described on clinical observation and autopsy findings. Autops Case Rep. 2013; 3(2):1–4.
3. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario

- F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013; 65(1):1–11.
4. **Eustace JA, Nadasdy T, Choi M.** Disease of the month. The Churg-Strauss syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10:2048–55.
  5. **Fina A, Dubus JC, Tran A, Derelle J, Reix P, Fayon M, et al.** Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis in children: Data from the French RespiRare® cohort. *Pediatr Pulmonol.* 2018; 53(12):1640–50.
  6. **Moosig F, Bremer JB, Hellmich B, Holle JU, Holl-Ulrich K, Laudien M, et al.** A vasculitis centre based management strategy leads to improved outcome in eosinophilic granulomatosis and polyangiitis (Churg-Strauss, EGPA): monocentric experiences in 150 patients. *Ann Rheum Dis.* 2013; 72(6):1011–7.
  7. **Piram M, Maldini C, Mahr A.** Effect of race/ethnicity on risk, presentation and course of connective tissue diseases and primary systemic vasculitides. *Curr Opin Rheumatol.* 2012; 24: 193–200.
  8. **Conron M, Beynon HL.** Churg-Strauss syndrome. *Thorax.* 2000; 55:870.
  9. **Mouthon L, Le Toumelin P, Andre MH, Gayraud M, Casasus P, Guillevin L.** Polyarteritis nodosa and Churg-Strauss angiitis: characteristics and outcome in 38 patients over 65 years. *Medicine (Baltimore).* 2002; 81(1):27–40.
  10. **Abril A, Calamia KT, Cohen MD.** The Churg Strauss syndrome (allergic granulomatous angiitis): review and update. *Semin Arthritis Rheum.* 2003; 33:106.
  11. **Zwerina J, Eger G, Englbrecht M, Manger B, Schett G.** Churg-Strauss syndrome in childhood: a systematic literature review and clinical comparison with adult patients. *Semin Arthritis Rheum.* 2009; 39(2):108–15.
  12. **Gendelman S, Zeft A, Spalding SJ.** Childhood-onset eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (formerly Churg-Strauss syndrome): a contemporary single-center cohort. *J Rheumatol.* 2013; 40:929.
  13. **Iudici M, Puéchal X, Pagnoux C, Quartier P, Agard C, Aouba A, et al.** Brief Report: Childhood-onset systemic necrotizing vasculitides: long-term data from the french vasculitis study group registry. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(7):1959–65.
  14. **Harrold LR, Andrade SE, Go AS, Buist AS, Eisner M, Vollmer WM, et al.** Incidence of Churg-Strauss syndrome in asthma drug users: a population-based perspective. *J Rheumatol.* 2005; 32(6):1076–80.
  15. **Hellmich B, Ehlers S, Csernok E, Gross WL.** Update on the pathogenesis of Churg-Strauss syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2003; 21:S69.
  16. **Zwerina J, Axmann R, Jatzwauk M, Sahinbegovic E, Polzer K, Schett G.** Pathogenesis of Churg-Strauss syndrome: recent insights. *Autoimmunity.* 2009; 42(4):376–9.
  17. **Schmitt WH, Csernok E, Kobayashi S, Klinkenborg A, Reinhold-Keller E, Gross WL.** Churg-Strauss syndrome: serum markers of lymphocyte activation and endothelial damage. *Arthritis Rheum.* 1998; 41(3):445–52.
  18. **Hellmich B, Csernok E, Gross WL.** Proinflammatory cytokines and autoimmunity in Churg-Strauss syndrome. *Ann NY Acad Sci.* 2005; 1051:121.
  19. **Specks U.** Pulmonary vasculitis. In: *Interstitial Lung Disease*, 5th, Schwarz, MI, King, TE Jr (Eds), People's Medical Publishing House, Shelton, CT, USA 2011; 765.
  20. **Keogh KA.** Leukotriene receptor antagonists and Churg-Strauss syndrome: cause, trigger or merely an association? *Drug Saf* 2007; 30:837.
  21. **Bibby S, Healy B, Steele R, Kumareswaran K, Nelson H, Beasley R.** Association between leukotriene receptor antagonist therapy and Churg-Strauss syndrome: an analysis of the FDA AERS database. *Thorax.* 2010; 65(2):132–8.
  22. **Orriols R, Muñoz X, Ferrer J, Huget P, Morell F.** Cocaine-induced Churg-Strauss vasculitis. *Eur Respir J.* 1996; 9(1):175–7.
  23. **Wiesner O, Russell KA, Lee AS, Jenne DE, Trimarchi M, Gregorini G, et al.** Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50(9):2954–65.
  24. **Churg A, Brallas M, Cronin SR, Churg J.** Formes frustes of Churg-Strauss syndrome. *Chest* 1995; 108:320.
  25. **Hueto-Perez-de-Heredia JJ, Dominguez-del-Valle FJ, Garcia E, Gomez ML, Gallego J.** Chronic eosinophilic pneumonia as a presenting feature of Churg-Strauss syndrome. *Eur Respir J.* 1994; 7(5):1006–8.
  26. **Talmadge E, King Jr.** Clinical features and diagnosis of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). UpToDate 2022. <https://www.uptodate.com/contents/clinical-features-and-diagnosis-of-eosinophilic-granulomatosis-with-polyangiitis-churg-strauss>. Last updated: Mar 22, 2022.
  27. **Nanzer AM, Wechsler ME.** Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. In: Jackson DJ, Wechsler ME, eds. *Eosinophilic lung diseases (ERS monograph)*. Sheffield, European Respiratory Society, 2022; 177–192.
  28. **Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum.* 1990; 33(2):160–72.
  29. **Groh M, Pagnoux C, Baldini C, Bel E, Bottero P, Cottin V, et al.** Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss) (EGPA) Consensus Task Force recommendations for evaluation and management. *Eur J Intern Med.* 2015; 26(7):545–53.
  30. **Grayson PC, Ponte C, Suppiah R, Robson JC, Craven A, Judge A, et al.** 2022 American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology classification criteria for eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Ann Rheum Dis.* 2022; 81(3):309–14.
  31. **Chung SA, Langford CA, Maz M, Abril A, Gorelik M, Guyatt G, et al.** 2021 American College of Rheumatology/Vasculitis Foundation Guideline for the management of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheumatol.* 2021; 73(8):1366–83.

## Pleuros mezotelioma

PLEURAL MESOTHELIOMA

NERINGA VAGULIENĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Pleuros mezotelioma (PM) – tai retas blogos prognozės pleuros mezotelio ląstelių navikas. Daugiau kaip 80 proc. PM sukelia asbestas. Nors daugelyje šalių asbesto naudojimas yra uždraustas, prognozuojamas sergamumo PM didėjimas, todėl pažangi diagnostika, nauji gydymo metodai, kurie pagerintų sergančiųjų mezotelioma prognozę, yra ypač aktualūs. Daugiau kaip po dviejų dešimtmečių neoperabilios PM, patvirtintas naujas gydymo metodas – imunoterapija.

**Reikšminiai žodžiai:** pleuros mezotelioma, diagnostika, chemoterapija, imunoterapija.

**Summary.** Pleural mesothelioma (PM) is a rare pleural mesothelial cell malignancy with a poor prognosis. More than 80% PM is associated with prior exposure to asbestos. Asbestos is banned in many countries, but globally the disease burden is expected to rise. Advanced diagnostics and new treatment strategies can improve the prognosis of patients. After more than two decades, a new treatment method – immunotherapy – has been approved for the treatment of inoperable PM.

**Keywords:** pleural mesothelioma, diagnostics, chemotherapy, immunotherapy.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1016>

### IVADAS

Pleuros mezotelioma (PM) – tai pleuros mezotelio ląstelių piktybinis navikas, priskiriamas retų navikų grupei. Tai blogos prognozės onkologinė liga, kurios vienerių metų bendras išgyvenamumas siekia tik 38 proc., o amžiaus mediana diagnozavus – 75 metai [1]. PM dažniau serga vyrai. Pasaulyje vyrų standartizuotas sergamumo rodiklis 0,7, moterų – 0,3 atvejo 100 tūkst. gyventojų, Europoje vyrų standartizuotas sergamumo rodiklis 1,7, moterų – 0,4 atvejo 100 tūkst. gyventojų.

Vienas svarbiausių PM rizikos veiksnių yra asbestas. Latentinis laikotarpis nuo asbesto ekspozicijos iki mezoteliomos simptomų pradžios yra 30–40 metų. Nepaisant didėjančio asbesto gamybos ir tiekimo draudimo, mirčių nuo PM tik daugėja [2]. Kadangi mezotelioma pasižymi ilgu latentiniu laikotarpiu, kasmet diagnozuojami nauji mezoteliomos atvejai ir prognozuojamas sergamumo mezotelioma didėjimas, todėl naujų gydymo metodų, vaistų, kurie pagerintų sergančiųjų mezotelioma prognozę, kūrimas yra ypač aktualu.

### RIZIKOS VEIKSNIAI

Daugiau nei 80 proc. mezoteliomos atvejų nulemia asbestas, tačiau tik apie 10 proc. dirbančiųjų su asbestu susergera mezotelioma [3]. Asbestas – tai gamtoje aptinkamas pluoštinis mineralas, kuris anksčiau buvo plačiai naudojamas statybose, laivų gamyboje, popieriaus pramonėje. Asbesto arba jo turinčių gaminių naudojimas Jungtinėje Karalystėje (JK) uždraustas nuo 1999 m., o Europos Sąjungoje, įskaitant ir Lietuvą, – nuo 2005 m., bet jo vis dar galima rasti senesnės staty-

bos namų stogų dangose. Nors daugelyje šalių asbesto kasyba ir naudojimas pramonėje yra draudžiama arba griežtai reglamentuota, įvairiuose pasaulio regionuose jis vis tiek naudojamas dažnai. Asbesto arba jo turinčių gaminių naudojimas šiuo metu uždraustas 67 šalyse. Daugiau nei 80 proc. asbesto produkcijos pagaminama Rusijoje, Kazachstane ir Kinijoje. Dėl ilgo latentinio periodo nuo asbesto poveikio iki mezoteliomos išsivystymo kasmet vis dar diagnozuojami nauji mezoteliomos atvejai. Be to, šalys, kuriuose buvo uždraustas asbesto naudojimas, sudaro tik 16 proc. pasaulio gyventojų, todėl prognozuojamas PM atvejų didėjimas [4]. 2014 m. epidemiologinio tyrimo duomenimis, didžiausias PM skaičius Europoje buvo JK, Nyderlanduose, Maltoje ir Belgijoje [5]. Nurodoma, kad PM gali susirgti ne tik su asbestu dirbantys žmonės, bet ir šeimos nariai, liečiantys asbestą, kuris lieka ant dirbančiųjų su asbestu šeimos narių drabužių [6].

Mezoteliomos išsivystymui įtakos turi ne tik asbestas, bet ir kiti veiksniai, tokie kaip mineralas zeolitas, spinduliuotė, SV40 virusas (angl. *Simian Virus 40*), genetinis polimorfizmas [7]. Sergant mezotelioma 25 proc. atvejų nustatoma BAP1, 12,5 proc. BRCA2 ir 8,3 proc. CDKN2A mutacijos [8].

### PATOGENEZĖ

Mezotelioma susergama įvykus mezotelio ląstelių neoplazinei transformacijai. Galimi keli asbesto poveikio patogenetiniai mechanizmai [9–11]:

- Įkvėpti asbesto plaušeliai sukelia vietinę uždegiminę reakciją.
- Asbesto plaušeliai prasiskverbia į mezotelio ląste-

les ir suardo mitozines verpstes, dėl ko atsiranda chromosominių anomalijų.

- Mezotelio ląstelės išskiria uždegimo citokinus ir augimo faktorius, sukelia lėtinį uždegimą.
- Asbesto plaušeliai aktyvina makrofagus, kurie išskiria reaktyvias deguonies formas, kurios pažeidžia ląstelių deoksiribonukleorūgštis (DNR) ir sukelia mutacijas.
- Žūstant mezotelio ląstelėms, išsiskiria branduolio didelio judrumo baltymas 1 (angl. *high-mobility group box 1*), kuris dar labiau skatina ir palaiko lėtinį uždegimą.
- Baltymų kinazių fosforilinimas didina protoonkogenų raišką, sutrikusią ląstelių proliferaciją.

## KLINIKINIAI POŽYMAI IR DIAGNOZĖS NUSTATYMAS

PM simptomai nėra specifiniai, dėl to neretai ligos diagnozė nustatoma pavėluotai. Dažniausias šios ligos simptomas yra dusulys, kurį sukelia susikaupęs skystis pleuros ertmėje. Pacientus taip pat gali varginti krūtinės ląstos skausmas, karščiavimas, prakaitavimas, svorio mažėjimas. Objektiviai tiriant, esant skysčiui pleuros ertmėje, gali būti susilpnėjęs arba negirdimas tos pusės alsavimas.

Standartiniai tyrimai, kurie atliekami įtarus PM, pateikiami 1 lentelėje.

Mezoteliomos morfologinė diagnostika grindžiama 2021 m. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) patvirtinta pleuros ir perikardo navikų klasifikacija [12]. Priklausomai nuo navikinių ląstelių augimo tipo, gali būti lokalizuota arba difuzinė PM forma. Morfologiškai difuzinė PM skiriama į tris histologinius subtipus: epitelioidinį (60 proc.), sarkomatoidinį (20 proc.) ir bifazinį (20 proc.). Bifaziniu vadinamas toks morfologinis tipas, kuris turi tiek epitelioidinį, tiek sarkomatoidinį komponentus. PM morfologinis ištyrimas reikalingas ne tik siekiant parinkti individualų gydymą pacientui, bet ir prognozuoti ligos eigą [13]. Epitelioidinė PM siejama su geresne prognoze, lyginant su sarkomatoidine PM, o bifazinės PM prognozė priklauso nuo to, koks ląstelių tipas dominuoja – epitelioidinis ar sarkomatoidinis [14]. 2021 m. PSO krūtinės ląstos navikų klasifikacijos leidime išskiriama mezotelioma *in situ*, kurios diagnozė gali būti pagrindžiama 100–200 mm<sup>2</sup> dydžio biopsijos medžiaga iš kelių vietų, o ne smulkiaja biopsija arba citologija [12].

Mezoteliomos išplitimas vertinamas naudojant 8-ąją pleuros mezoteliomos TNM klasifikaciją (2018) [15]. Tyrimų eiliškumas, siekiant įvertinti PM išplitimą, pateikiamas pirmajame paveiksle [16].

Nors PM yra blogos prognozės liga,

daugiadalykės komandos dalyvavimas diagnostikos ir gydymo taktikos strategijoje leidžia sumažinti užsitęsios diagnostikos ir gydymo klaidas. Kokią PM gydymo taktiką taikyti, sprendžiama per daugiadalykį aptarimą, kuriame dalyvauja gydytojas pulmonologas arba (gydymo klausimais) gydytojas onkologas chemoterapeutas, gydytojas krūtinės chirurgas, gydytojas onkologas radioterapeutas ir, prireikus, papildomai įtraukiami gydytojas radiologas, gydytojas patologas, o gydymas taikomas tose gydymo įstaigose, kuriose užtikrinamas visų reikiamų daugiadalykės komandos narių

### 1 lentelė. Pleuros mezoteliomos diagnostika

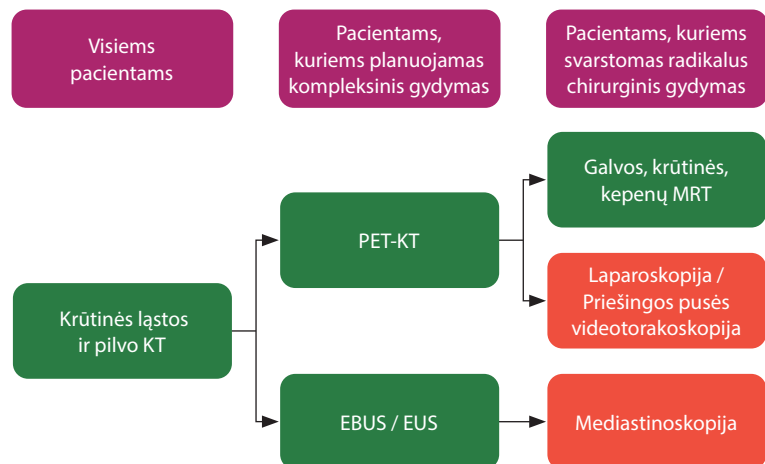
Pradinis etapas	Diagnostikos etapas
Profesinė anamnezė	Krūtinės ląstos ir pilvo KT
Krūtinės ląstos rentgeninis tyrimas	Pleuros skysčio citologinis ištyrimas
Bendrieji laboratoriniai kraujo tyrimai	Torakoskopija su pleuros biopsija* arba KT/UG kontrolėje pleuros biopsija

\*Pirmenybė torakoskopijai su pleuros biopsija.

KT – kompiuterinė tomografija; UG – ultragarsinis tyrimas.

### 2 lentelė. Chirurginis pleuros mezoteliomos gydymas

<b>Ekstrapleurinė pneumonektomija</b>	Parietalinė ir visceralinė pleurektomija su tos pačios pusės plaučio ir (arba) diafragmos perikardo rezekcija
<b>Išplėstinė pleurektomija</b>	Parietalinė ir visceralinė pleurektomija su diafragmos ir (arba) perikardo rezekcija
<b>Pleurektomija dekortikacija</b>	Parietalinė ir visceralinė pleurektomija be diafragmos arba perikardo rezekcijos
<b>Dalinė pleurektomija</b>	Dalinis parietalinės ir (arba) visceralinės pleuros pašalinimas dėl diagnostikos arba paliatyvios chirurginės procedūros (naviko masės sumažinimo)



1 pav. Rekomenduojami tyrimai vertinant pleuros mezoteliomos išplitimą

EBUG – endobronchinis ultragarsinis tyrimas; EUG – endoskopinis ultragarsinis tyrimas; KT – kompiuterinė tomografija; MRT – magnetinio rezonanso tomografija; PET-KT – pozitronų emisijos tomografija su kompiuterine tomografija.



# Pulmonologija ir alergologija

dalyvavimas, kompleksinis PM sergančiųjų ištyrimas ir gydymas.

## CHIRURGINIS GYDYMAS

Chirurginio gydymo galimybės yra ribotos, radikali operacija taikoma tik gerai atrinktiems pacientams, kuriems nustatyta ankstyvosios stadijos PM, bet radikali operacija nerekomenduojama nustačius sarkomatoidinį mezoteliomos histologinį tipą [17].

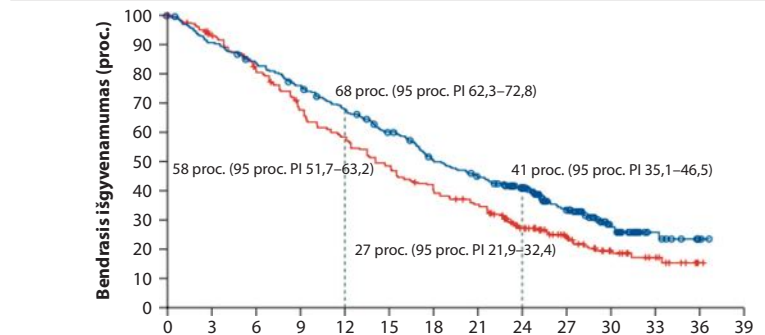
2011 m. Tarptautinė plaučių vėžio tyrimų draugija (angl. *Association for the Study of Lung Cancer, IASLC*) ir Tarptautinė mezoteliomos interesų grupė (angl. *International Mesothelioma Interest Group*) PM chirurginį gydymą suskirstė į keturias grupes, kurios pateikiamos 2 lentelėje [18].

## SISTEMINIS GYDYMAS

Nuo 2003 m. chemoterapija cisplatina ir pemetreksedu buvo neoperabilios PM gydymo standartas [19]. Dar po dešimt metų chemoterapija cisplatina ir pemetreksedu kartu su angiogenezės slopintuju bevacizumabu pagerino sergančiųjų PM bendrąjį išgyvenamumą, palyginti su chemoterapija cisplatina ir pemetreksedu (santykinė rizika 0,77, 95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 0,62–0,95,  $P = 0,0167$ ; bendra išgyvenamumo mediana 18,8 mėn., palyginti su mediana 16,1 mėn.) [20] ir papildė gydymo galimybes sergantiesiems neoperabilia PM.

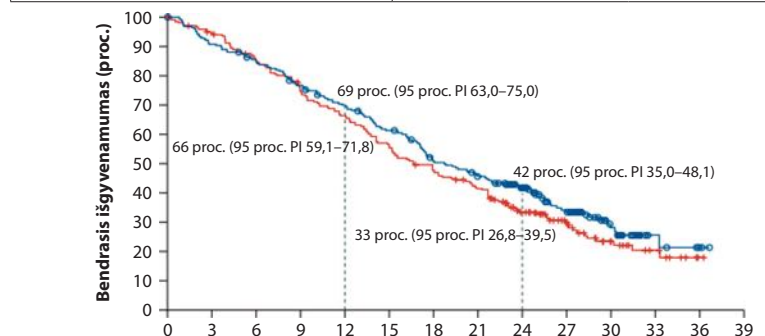
Gydymas imuninės sistemos kontrolės inhibitoriais (angl. *immune check point inhibitors*), dažniau vadinamas imunoterapija, – tai naujas ir veiksmingas sisteminio gydymo metodas, kuomet aktyvinamos imuninės sistemos ląstelės, kad šios galėtų atpažinti ir sunaikinti vėžio ląsteles. Imunoterapija plačiai skiriama lokaliai išplitusiam arba metastazavusiam plaučių vėžiui gydyti, bet pastarųjų metų klinikinių tyrimų duomenys parodė, kad imunoterapija veiksminga gydant sergančiuosius neoperabilia PM. Nors gydymas vienu imunoterapijos vaistu nepagerino sergančiųjų PM baigčių [21], gydymas dviem imuninės sistemos kontrolės inhibitoriais – programuotos ląstelių žūties baltymo (angl. *programmed death-1, PD-1*) inhibitoriumi nivolumabu ir citotoksiniu T limfocitų antigeno 4 (angl. *cytotoxic T-cell antigen-4, CTLA4*) inhibitoriumi ipilimumabu prailgino sergančiųjų neoperabilia PM bendrąjį

	Nivolumabas + ipilimumabas	Chemoterapija
Bendrojo išgyvenamumo mediana (95 proc. PI), mėn.	18,1 (16,8–21,4)	14,1 (12,4–16,2)
Santykinė rizika	0,74 (96,6 proc. PI 0,60–0,91); $p = 0,0020$	



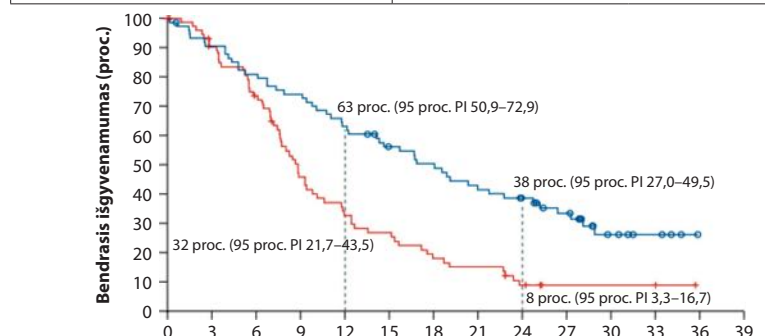
Tiriamieji, kuriems yra rizika														
Nivolumabas + ipilimumabas	303	273	251	226	200	173	143	124	101	65	30	11	2	0
	(0)	(2)	(4)	(5)	(7)	(11)	(14)	(16)	(29)	(49)	(76)	(93)	(101)	(103)
Chemoterapija	302	268	233	190	162	136	113	95	62	38	20	11	1	0
	(0)	(15)	(18)	(20)	(20)	(20)	(21)	(23)	(36)	(55)	(66)	(73)	(82)	(83)

	Nivolumabas + ipilimumabas	Chemoterapija
Bendrojo išgyvenamumo mediana (95 proc. PI), mėn.	18,7 (16,9–22,0)	16,5 (14,9–20,5)
Santykinė rizika	0,86 (95 proc. PI 0,69–1,08)	



Tiriamieji, kuriems yra rizika														
Nivolumabas + ipilimumabas	229	207	192	172	154	135	109	96	77	47	22	6	2	0
	(0)	(1)	(3)	(4)	(6)	(7)	(10)	(12)	(23)	(40)	(60)	(74)	(77)	(79)
Chemoterapija	227	204	182	159	140	118	101	85	57	36	18	9	1	0
	(0)	(11)	(13)	(14)	(14)	(14)	(15)	(17)	(29)	(45)	(56)	(63)	(70)	(71)

	Nivolumabas + ipilimumabas	Chemoterapija
Bendrojo išgyvenamumo mediana (95 proc. PI), mėn.	18,1 (12,2–22,8)	8,8 (7,4–10,2)
Santykinė rizika	0,46 (95 proc. PI 0,31–0,68)	



Tiriamieji, kuriems yra rizika														
Nivolumabas + ipilimumabas	74	66	59	54	46	38	34	28	24	18	8	5	0	0
	(0)	(1)	(1)	(1)	(1)	(4)	(4)	(4)	(6)	(9)	(16)	(19)	(24)	(24)
Chemoterapija	75	64	51	31	22	18	12	10	5	2	2	2	0	0
	(0)	(4)	(5)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(7)	(10)	(10)	(10)	(12)	(12)

**2 pav. Bendrojo išgyvenamumo trukmė: visi atsitiktine tvarka į tyrimą įtraukti pacientai (A), epitelioidinis histologinis tipas (B), ne epitelioidinis histologinis tipas (C).**

PI – pasikliautinis intervalas.

gyvenimo trukmę, nepriklausomai nuo programuotos ląstelių žūties ligando (angl. *programmed death ligand-1*, PD-L1) raiškos navikiniame audinyje [22]. Atliekami klinikiniai tyrimai neoperabiliai PM gydyti skyrus chemoterapiją kartu su imunoterapija, bet šiuo metu trūksta duomenų, kad kombinuotas gydymas yra pranašesnis už chemoterapiją arba imunoterapiją.

Duomenys, kad PD-L1 raiška arba naviko mutacijų našta (angl. *tumor mutation burden*) galėtų padėti prognozuoti ligos eigą skiriant imunoterapiją, yra prieštaringi, todėl jų, kaip prognostinių žymenų naudojimas, yra nerekomenduojamas.

## CheckMate 743 TYRIMAS

Trečiosios fazės atsitiktinių imčių klinikinio tyrimo CheckMate 743 laikotarpiu buvo vertinamas nivolumabo, PD-1 inhibitoriaus, ir ipilimumabo, CTLA-4 inhibitoriaus, veiksmingumas ir saugumas, kaip pirmos eilės gydymo, skiriant sergantiesiems neoperabiliai PM, ir lyginta su tais pacientais, kuriems buvo skirta chemoterapija platinos pagrindu ir pemetreksedu [23]. Į šį klinikinį tyrimą įtraukti sergantieji neoperabiliai PM, kurių funkcinė būklė pagal ECOG (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) skalę 0–1 balai, prieš tai neskirtas gydymas, atsitiktine tvarka suskirstius į dvi tyrimo grupes santykiu 1:1. 303 pacientams skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu iki dvejų metų ir 302 tiriamiesiems skirta chemoterapija cisplatina arba karboplatina kartu su pemetreksedu iki šešių kursų. Po tarpinės duomenų analizės (stebėsenos mediana 29,7 mėn.) sergantiesiems PM, kuriems skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu, bendroji gyvenimo trukmė reikšmingai ilgesnė nei sergančiųjų PM, kuriems skirta chemoterapija (stratifikuota santykinė rizika 0,74, 95 proc. PI: 0,60–0,91,  $p = 0,002$ ; bendrojo išgyvenamumo mediana = 18,1 mėn., palyginti su 14,1 mėn.), ir ypač ne epitelioidiniam histologiniam subtipui (2 pav.), kuris pasižymi greitesniu vystymusi, atsparumu chemoterapijai ir blogesne prognoze. Dvejus metus išgyveno 41 proc. (95 proc. PI: 35,1–46,5), kuriems skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu, ir 27 proc. (95 proc. PI: 21,9–32,4), kuriems skirta chemoterapija. Po pakartotinės duomenų analizės (stebėsenos mediana 43,1 mėn.) bendroji gyvenimo trukmės mediana išliko tokia pati abiejose grupėse (stratifikuota santykinė rizika 0,73, 95 proc. PI: 0,61–0,87), trejus metus išgyveno 23 proc., kuriems skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu, ir 15 proc., kuriems skirta chemoterapija [24].

Per šį klinikinį tyrimą trečio arba ketvirto laipsnio nepageidaujami požymiai nustatyti 30 proc. pacientų, kuriems skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu, ir 32 proc. pacientų, kuriems skirtas gydymas chemoterapija. Trys (1 proc.) su gydymu susiję mirties atvejai

įvyko skyrus gydymą nivolumabu ir ipilimumabu ir vienas (< 1 proc.) skyrus gydymą chemoterapija.

2020 m. neoperabiliai PM pirmos eilės gydymui Maisto ir vaistų administracija (angl. *Food and drug administration*, FDA) bei Europos vaistų agentūra (angl. *European Medicines Agency*, EMA) patvirtino imunoterapiją ipilimumabu ir nivolumabu. Šis dviejų imuninės sistemos kontrolės inhibitorių derinys taip pat pateikiamas Nacionalinio visuotinio vėžio tinklo (angl. *National Comprehensive Cancer Network*, NCCN) ir Europos medicinos onkologų draugijos (angl. *European Society of Medical Oncology*, ESMO) rekomendacijose [16, 25].

## APIBENDRINIMAS

Nors daugelyje šalių asbesto naudojimas yra uždraustas, dėl ilgo latentinio laikotarpio nuo asbesto ekspozicijos iki simptomų pradžios prognozuojamas PM atvejų didėjimas. Ilgą laiką chemoterapija cisplatina ir pemetreksedu be arba su angiogenezės slopintuju bevacizumabu buvo neoperabiliai PM pirmos eilės gydymo standartas. Daugiau kaip po dviejų dešimtmečių šiai ligai gydyti patvirtintas naujas gydymo metodas – imunoterapija, kuris reikšmingai prailgina sergančiųjų neoperabiliai PM bendrąjį išgyvenamumą.

## LITERATŪRA

1. **Robinson BW, Lake RA.** Advances in malignant mesothelioma. *N Engl J Med.* 2005; 353(15):1591–603.
2. **Bibby AC, Tsim S, Kanellakis N, Ball H, Talbot DC, Blyth KG, et al.** Malignant pleural mesothelioma: an update on investigation, diagnosis and treatment. *Eur Respir Rev.* 2016; 25:472–86.
3. **Chen T, Sun XM, Wu L.** High time for complete ban on asbestos use in developing countries. *JAMA Oncol.* 2019; 5(6):779–80.
4. **Roe OD, Stella GM.** Malignant pleural mesothelioma: history, controversy and future of a manmade epidemic. *Eur Respir Rev.* 2015; 24:115–31.
5. **Bianchi C, Bianchi T.** Global mesothelioma epidemic: trend and features. *Indian J Occup Environ Med.* 2014; 18:82–8.
6. **Carbone M, Kratzke RA, Testa JR.** The pathogenesis of mesothelioma. *Semin Oncol.* 2002; 29:2–17.
7. **Jasani B, Gibbs A.** Mesothelioma not associated with asbestos exposure. *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136:262–7.
8. **Panou V, Gadiraju M, Wolin A, Weipert CM, Skarda E, Husain AN, et al.** Frequency of germline mutations in cancer susceptibility genes in malignant mesothelioma. *J Clin Oncol.* 2018; 36(28):2863–71.
9. **Sekido Y.** Molecular pathogenesis of malignant mesothelioma. *Carcinogenesis.* 2013; 34:1413–9.
10. **Sekido Y.** Molecular biology of malignant mesothelioma. *Environ Health Prev Med.* 2008; 13:65–70.
11. **Yang H, Rivera Z, Jube S, Nasu M, Bertino P, Goparaju C, et al.** Programmed necrosis induced by asbestos in human mesothelial cells causes high-mobility group box 1 protein release and resultant inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107:12611–6.
12. **Sauter JL, Dacic S, Galateau-Salle F, Attanoos RL, Butnor KJ, Churg A, et al.** The 2021 WHO classification of tumors of the pleura: advances since the 2015. Classification. *J Thorac Oncol.* 2022; 17(5):608–22.
13. **Marchevsky AM, Khoor A, Walts AE, Nicholson AG, Zhang YZ, Roggli V, et al.** Localized malignant mesothelioma, an unusual and poorly characterized neoplasm of serosal origin: best current evidence from the literature and the International Mesothelioma Panel. *Mod Pathol.* 2020; 33:281–96.
14. **Brimms F.** Epidemiology and Clinical Aspects of Malignant Pleural Mesothelioma Cancers (Basel). 2021; 13(16):4194.

15. **Berzenji L, Van Schil PE, Carp L.** The eighth TNM classification for malignant pleural mesothelioma. *Transl Lung Cancer Res.* 2018; 7(5):543–9.
16. **Popat S, Baas P, Faivre–Finn C, Girard N, Nicholson AG, Nowak AK, et al.** ESMO Guidelines Committee. Electronic address: [clinicalguidelines@esmo.org](mailto:clinicalguidelines@esmo.org). Malignant pleural mesothelioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow–up. *Ann Oncol.* 2022; 33(2):129–42.
17. **Scherpereel A, Opitz I, Berghmans T, Psallidas I, Glatzer M, Rigau D, et al.** ERS/ESTS/EACTS/ESTRO guidelines for the management of malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J.* 2020; 55:1900953.
18. **Rice D, Rusch V, Pass H, Asamura H, Nakano T, Edwards J, et al.** International Association for the Study of Lung Cancer International Staging Committee and the International Mesothelioma Interest Group. Recommendations for uniform definitions of surgical techniques for malignant pleural mesothelioma: a consensus report of the international association for the study of lung cancer international staging committee and the international mesothelioma interest group. *J Thorac Oncol.* 2011; 6(8):1304–12.
19. **Vogelzang NJ, Rusthoven JJ, Symanowski J, Denham C, Kaukel E, Ruffie P, et al.** Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol.* 2003; 21:2636–44.
20. **Zalcman G, Mazieres J, Margery J, Greillier L, Audigier–Valette C, Moro–Sibilot D, et al.** Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): A randomised, controlled, open–label, phase 3 trial. *Lancet.* 2016; 387:1405–14.
21. **Maio M, Scherpereel A, Calabro L, Aerts J, Perez SC, Bearz A, et al.** Tremelimumab as second–line or third–line treatment in relapsed malignant mesothelioma (DETERMINE): A multicentre, international, randomised, double–blind, placebo–controlled phase 2b trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18:1261–73.
22. **Nakajima EC, Vellanki PJ, Larkins E, Chatterjee S, Mishra–Kalyani PS, Bi Y, et al.** FDA approval summary: nivolumab in combination with ipilimumab for the treatment of unresectable malignant pleural mesothelioma. *Clin Cancer Res.* 2022; 28:446–51.
23. **Baas P, Scherpereel A, Nowak AK, Fujimoto N, Peters S, Tsao AS, et al.** First–line nivolumab plus ipilimumab in unresectable malignant pleural mesothelioma (CheckMate 743): a multicentre, randomised, open–label, phase 3 trial. *Lancet.* 2021; 397(10272):375–86.
24. **Peters S, Scherpereel A, Cornelissen R, Oulhouir Y, Greillier L, Kaplan MA, et al.** First–line nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy in patients with unresectable malignant pleural mesothelioma: 3–year outcomes from CheckMate 743. *Ann Oncol.* 2022; 33(5):488–99.
25. National Comprehensive Cancer Network. Malignant pleural mesothelioma. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®), 2022. Available at: <https://www.nccn.org/search-result?indexCatalogue=nccn-search-index&searchQuery=Mesothelioma%20Malignant%20Pleural&wordsMode=AllWords>

# Veiksnių, susijusių su skreplių pasėlio konversija, gydant vaistams jautrią ir atsparią tuberkuliozę, tyrimas

ANALYSIS OF FACTORS ASSOCIATED WITH SPUTUM CULTURE CONVERSION DURING TREATMENT OF DRUG-SUSCEPTIBLE AND DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

GRETA MUSTEIKIENĖ  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

2022 m. birželio 10 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos viešajame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje Greta Musteikienė sėkmingai apgynė daktaro mokslo laipsnio disertaciją „Veiksnių, susijusių su skreplių pasėlio konversija, gydant vaistams jautrią ir atsparią tuberkuliozę, tyrimas“. Disertacija rengta 2015–2021 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Pulmonologijos klinikoje. Straipsnyje pateikiami esminiai disertacijos rezultatai.

Mokslinis vadovas:

prof. dr. Skaidrius Miliauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas).

Konsultantė:

prof. dr. Astra Vitkauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas).

Disertacijos gynimo taryba:

prof. dr. Jūratė Macijauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

prof. dr. Laura Malinauskienė (Vilniaus universitetas);

prof. dr. Saulius Lukoševičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

prof. dr. Gediminas Jaruševičius (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

prof. dr. Mario C. Raviglione (Milano universitetas).

Greta Musteikienė successfully defended her doctoral dissertation “Analysis of factors associated with sputum culture conversion during treatment of drug-susceptible and drug-resistant tuberculosis” at the open session of the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on the 10th of June, 2020. The Dissertation has been prepared at the Department of Pulmonology of the Medical Academy of the Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2015–2021. The article presents the main results of the dissertation.

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Skaidrius Miliauskas (Lithuanian University of Health Sciences).

Consultant:

Prof. Dr. Astra Vitkauskienė (Lithuanian University of Health Sciences).

The Defense Council:

Prof. Dr. Jūratė Macijauskienė (Lithuanian University of Health Sciences).

Prof. Dr. Laura Malinauskienė (Vilnius university);

Prof. Dr. Saulius Lukoševičius (Lithuanian University of Health Sciences);

Prof. Dr. Gediminas Jaruševičius (Lithuanian University of Health Sciences);

Prof. Dr. Mario C. Raviglione (University of Milan).

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1017>

## IVADAS

Tuberkuliozė (TB) – tai infekcinė, uždegiminė liga, sukeliama mikobakterijų, priklausančių *Mycobacterium tuberculosis* kompleksui. TB įprastai yra lėtinė liga ir dažniausiai pažeidžia plaučius.

Vaistams jautri TB dažniausiai sėkmingai išgydoma per 6 mėn., bet nustatius atsparumą rifampicinui,

vienam iš pačių veiksmingiausių vaistų nuo TB, gydymo trukmė pastebimai ilgėja, o pasveikimo tikimybė mažėja [1]. Daugeliui vaistų atspari TB (DVA-TB) – atspari mažiausiai dviem vaistams nuo TB – izoniazidui ir rifampicinui. Sergant DVA-TB, dėl veiksmingų vaistų, skirtų DVA-TB gydyti, trūkumo pasveikimo tikimybė mažėja [2]. Taip pat išskiriama ypač vaistams

# Disertacijos

atspari TB (YVA-TB). YVA-TB nustatoma tada, kai tuberkuliozės mikobakterijos (TM) atsparios izoniazidui, rifampicinui, bent vienam fluorochinolonui ir bent vienam kitam vaistui iš grupės A DVA-TB gydymo schemoje (bedakvilinui arba linezolidui). Lietuvoje bendra išgydytų DVA ir YVA-TB atvejų dalis 2018–2020 m. tesiekė 43,1 proc. [3]. Taigi, atsparumas vaistams sąlygoja dažnesnes gydymo nesėkmes.

Siekiant užkirsti kelią TB plitimui populiacijoje, svarbiausia nustatyti sergančiuosius TB, kurių skrepliuose randama TM. Šie žmonės yra epidemiologiškai pavojingi aplinkiniams, nes platina TM ir visame pasaulyje yra siekiama juos izoliuoti, kol šis pavojus išlieka. Priklausomai nuo atskirų valstybių įstatymų ir gydymo rekomendacijų, pacientai, kurių skrepliuose randama TM, gali būti izoliuojami ligoninėje tol, kol į aplinką išskiria TM. Lietuvoje įprastai šie pacientai stacionarizuojami ir gydomi ligoninėje.

Remiantis Lietuvos pulmonologų ir alergologų ir Lietuvos pulmonologų draugijų rekomendacijomis [4], skreplių pasėlius dėl TM reikia kartoti praėjus 2 mėn. nuo gydymo pradžios, vertinant skreplių pasėlio konversiją. Nors laikoma, kad skreplių pasėlio konversija po 2 mėn. gerai prognozuoja gydymo sėkmę [5, 6], 2 mėn., kuriuos pacientas praleidžia izoliuotas ligoninėje, gali turėti didelės įtakos paciento asmeniniam ir profesiniam gyvenimui.

Vertinant TB gydymo veiksmingumą iki šiol remiamasi klasikiniiais kriterijais – TM neradimu skrepliuose pabaigus gydymo kursą ir atkryčio nebuvimu per dvejus metus po gydymo užbaigimo [7]. Nors šie kriterijai buvo sėkmingai naudojami praityje, būtų naudinga rasti specifiškesnius biožymenis ligos prognozei, aktyvumui ir išplitimui, atsakui į skiriamą gydymą, atkryčio tikimybei ir gydymo pabaigai numatyti [5]. TB gydymo trukmės sumažinimas – vienas didžiausių vykstančių tyrimų tikslas [8], todėl svarbu nustatyti biožymenis, kurie galėtų kuo anksčiau prognozuoti TB gydymo sėkmę [9–11].

Skreplių pasėlio konversija klinikiniuose tyrimuose dažnai naudojama kaip mikrobiologinis rodiklis, turintis predikcinę vertę, siekiant kuo anksčiau įvertinti TB gydymo rezultatus, stebėti gydymą [12], bet iki šiol ne visiškai aišku, nuo kokių veiksnių skreplių pasėlio konversija gali priklausyti. Kaip galimi skreplių pasėlio konversiją lemiantys veiksniai tirti ir kai kurie biožymenys. Be įprastai klinikinėje praktikoje naudojamo C reaktyviojo baltymo (CRB), tyrinėjami ir įvairūs imuniniai žymenys. Daugelis jų nėra specifiški TB ir jų praktinė nauda nėra pakankamai aiški. Atlikta nemažai tyrimų su ląstelių adhezijos molekulėmis, ypač tarpląstelinės adhezijos molekulėmis 1 (ICAM-1, angl. *intercellular adhesion molecule 1*). Tai leukocitų integrinų ligandai, dalyvaujantys ląstelių adhezijoje ir leukocitų riedėjime. Tirpi šios molekulės forma (angl.

*soluble ICAM-1, sICAM-1*) patenka į kraujotaką. Urokinazės tipo plazminogeno aktyvatoriaus receptorius (uPAR) daugiausia ekspresuojamas makrofagų ir monocitų. Tirpios šio receptoriaus formos – suPAR (angl. *soluble urokinase-type plasminogen activator receptor*) koncentracija serume padidėja pacientams, kuriems nustatyta aktyvi TB, randamos sąsajos su mikobakterijų kiekiu skrepliuose [13]. Šio žymens naudai klinikinėje praktikoje patvirtinti reikalingi tolesni, geriausia prospektyviniai, tyrimai [14]. Ekspertai rekomenduoja naudoti ne vieną žymenį, o jų rinkinius, tačiau ir šios krypties tyrimų dar trūksta [5, 15].

Šiame tyrime taip pat vertintas atsparumo vaistams nuo TB dažnis tarp tirtų pacientų. Tarp tyrime naudotų vaistų buvo ir naujai į TB gydymo rekomendacijas įtraukti medikamentai: bedakvilinas, klofaziminas, linezolidas. Tyrimų apie atsparumą šiems vaistams ir šio atsparumo įtaką skreplių konversijai, mūsų žinios, Lietuvoje dar neatlikta.

## METODIKA

### Tyrimo dalyviai

Tyrimas vykdytas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (LSMUL KK) Pulmonologijos klinikoje, gavus Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimą (Nr. BE-2-11 2015.10.09) ir Valskybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimą (Nr. 2R-6540 (2.6-1.), 2015 m. lapkričio 10 d.).

Tyrimo dalyvauti buvo prašoma visų pacientų, stacionarizuotų Romainių tuberkuliozės ligoninėje nuo 2016 m. balandžio iki 2018 m. balandžio, atitinkančių įtraukimo kriterijus ir neturinčių neįtraukimo kriterijų. Pacientai buvo gydomi stacionare ne mažiau kaip 1 mėn., užtikrintas tiesiogiai stebimas gydymas.

Tiriamieji turėjo atitikti šiuos kriterijus: vyrai ir moterys 18–90 metų amžiaus, kuriems skreplių mikroskopijos tyrimu įtarta arba skreplių pasėlio tyrimu pirmą kartą gyvenime patvirtinta plaučių TB. Į tyrimą nebuvo įtraukiami pacientai, kuriems nustatyti šie neįtraukimo kriterijai: nėščiosios arba krūtimi maitinančios moterys; autoimuninėmis ligomis sergantys asmenys; asmenys, kuriems penkerių metų laikotarpyje buvo diagnozuota onkologinė liga; sergantys kitomis psichinėmis ir (arba) vidaus organų ligomis ir būklėmis, kurios gali paveikti imuninių žymenų koncentracijas arba, tyrėjo nuomone, yra neįtraukimo kriterijus. Iš tyrimo pašalinti pacientai, kuriems skreplių pasėlio metodu nustatyta infekcija ne tuberkuliozės mikobakterijomis arba gydant patvirtintos gretutinės ligos, kurios aprašytos neįtraukimo kriterijuose.

### Tyrimo eiga

Tiriamąjį dalyvavimą tyrime trukmė buvo vieni metai arba iki gydymo pabaigos, jei nustatyta vaistams atspari TB.

Po informuoto asmens sutikimo formos pasirašymo pacientui duota užpildyti Šv. Jurgio ligoninės kvėpavimo klausimyną (angl. *St. George respiratory questionnaire* (SGRQ)), patikslinta anamnezė, įvertinta rūkymo, alkoholio vartojimo anamnezė, socialiniai veiksniai (pilietybė, gyvenamoji vieta (miestas arba kaimas), šeimtinė padėtis, išsilavinimas, užsiėmimas (dirbantis arba nedirbantis), lytis, amžius, narkotikų vartojimas), atlikta krūtinės ląstos rentgenograma, paimtas kraujas iš periferinės venos iširti CRB, albuminą, vitaminą D, suPAR, sICAM-1 ir periferinių T limfocitų imunofenotipinei charakteristikai tėkmės citometrijos metodu nustatyti. Skrepliai sėti į skystą mitybinę terpę siekiant patvirtinti TB bakteriologiškai ir nustatyti TM jautrumą vaistams. Atliktas antikūnų prieš ŽIV1, ŽIV2 ir p24 antigenus tyrimas, remiantis nacionalinėmis rekomendacijomis. Jei buvo patvirtinta ŽIV infekcija, pacientas pašalintas iš tyrimo.

Nustačius plaučių TB ir žinant jautrumą pirmojo pasirinkimo vaistams nuo TB, arba dar laukiant TM atsparumo vaistams atsakymo, gydymas buvo pradamas pagal jautrios vaistams TB gydymo schemą (2HREZ/4HR – pirmus 2 mėn. skiriami izoniazidas, rifampicinas, etambutolis, pirazinamidas, vėliau dar 4 mėn. – izoniazidas ir rifampicinas). Jei gydymo laikotarpiu gaunamas atsakymas, kad TM atspari vienam arba daugiau vaistų nuo TB, gydymas koreguojamas pagal nacionalines rekomendacijas (DVA-TB atveju skiriamas ilgesnis iš galimų gydymo režimų). Praėjus mėnesiui nuo gydymo pradžios, kartota skreplių mikroskopija dėl rūgščiai atsparių bakterijų (RAB) (du kartus, dvi dienas iš eilės), skreplių pasėlis dėl TM, paimamas kraujas iš periferinės venos ištiriant CRB, suPAR, sICAM-1.

Praėjus 5 mėn. nuo gydymo pradžios vėl atlikta krūtinės ląstos rentgenograma, kartota skreplių mikroskopija dėl RAB ir pasėlis dėl TM, paimtas kraujas iš periferinės venos ištiriant CRB, suPAR, sICAM-1 koncentraciją ir periferinių T limfocitų imunofenotipinei charakteristikai tėkmės citometrijos metodu nustatyti.

Praėjus metams nuo gydymo pradžios susisiekiama su pacientu arba jo gydytoju, siekta sužinoti gydymo baigtis. Jei pacientui buvo nustatyta vaistams atspari TB ir gydymas po metų dar nebuvo baigtas, gydymo baigtis įvertinta po TB gydymo užbaigimo. TB gydymo baigtys suskirstytos į dvi grupes pagal Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) pateikiamus apibrėžimus: sėkmingas gydymas (pasveikimas); nesėkmingas gydymas (mirtis, nutrauktas gydymas).

## PAGRINDINIAI TYRIMO METODAI

Gyvenimo kokybei vertinti vartotas SGRQ. Tai standartizuotas klausimynas, skirtas matuoti sveikatos sutrikimą ir gyvenimo kokybę sergant kvėpavimo ligomis. Jis sukurtas siekiant lyginti sveikatos skirtumus

tarp atskirų pacientų ir gyvenimo kokybės kitimus gydymo laikotarpiu. Skaitinė SGRQ reikšmė apskaičiuota MS Excel programoje parengtu skaičiuotuviu. Pirmasis klausimyno klausimas, kur pacientai vertino savo bendrąją sveikatos būklę nuo 1 (labai bloga) iki 5 (labai gera), rezultatuose pateiktas atskirai.

Rūkymo anamnezė vertinta pakmečių skaičiumi.

Atliktos krūtinės ląstos rentgenogramos vertintos pasinaudojant Anna P. Ralph ir kolegų aprašyta skale [16] (toliau – „krūtinės ląstos rentgenogramos skalė“). Vertinant skaitine reikšme (nuo 0 iki 140) išreiškiamas TB sukeltas plaučių pažeidimas. Skaitinė skalės reikšmė sudaroma pagal formulę: TB pažeista plaučių dalis (proc.) + 40 (jei nustatoma kavitacija).

Skreplių mikroskopija dėl RAB buvo atliekama dviem etapais pagal Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) laboratorinės medicinos klinikos laboratorijoje patvirtintą metodiką: iš pradžių mėginys buvo dažomas fluorescencijos metodu, po to, jei mėginyje matomas būdingas švytėjimas – Cilio-Nilseno metodu. Rezultatai buvo pateikiami remiantis PSO ir Tarptautinės sąjungos prieš tuberkuliozę ir plaučių ligas (angl. *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*) pasiūlyta sistema: „pavieniai“ arba užrašomas rastų bakterijų kiekis (1–9 RAB peržiūrėjus 100 aliejaus imersijos regėjimo laukų); „1+“ (10–99 RAB 100 aliejaus imersijos regėjimo laukų); „2+“ (1–10 RAB viename aliejaus imersijos regėjimo lauke) ir „3+“ (> 10 RAB viename aliejaus imersijos regėjimo lauke).

Mikobakterijų auginimui pasėlyje naudotos specifinės selektyvios standžiosios ir skystosios mitybinės terpės. Nustatant diagnozę naudotos skystosios terpės, gydymo veiksmingumui ir konversijai 1 mėn. nuo gydymo pradžios įvertinti – kietosios terpės. Skreplių pasėlio konversija laikoma situacija, kai dviejuose iš eilės skreplių pasėliuose, su 30 d. pertrauka, nebeaptinkamos TM, kai pasėlyje prieš tai jos buvo aptiktos. Pasėlio konversijos laikas skaičiuojamas nuo pirmojo neigiamo pasėlio laiko.

Jautrumas vaistams tyrimo metu nustatytas fenotipiniais metodais. Atsparumas antrosios eilės prieštuberkulioziniais vaistams buvo tiriamas tiems pacientams, kurių skreplių pasėliuose išaugo poli-vaistams atsparūs arba daugeliui vaistų atsparūs TM izoliatai.

Laboratoriniai tyrimai buvo atliekami LSMU laboratorinės medicinos klinikos laboratorijoje. Periferinis kraujas analizei buvo surenkamas į *BD Vacutainer K3EDTA* mėgintuvėlius (BD, JAV). SuPAR ir sICAM-1 koncentracijoms nustatyti buvo naudojamas ELISA (imunofermentinė analizė (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)) metodas. Tiriant limfocitus tėkmės citometrijos metodu buvo taikyta tiesioginio dažymo metodika su ląstelių lizavimu ir plovimu (angl. *Stain Lyse Wash*). Veninio kraujo mėginiai buvo inkubuojami su fluorochromais žymėtais monokloniniais antikūnais

# Disertacijos

prieš šiuos žmogaus ląstelių antigenus: CD3 (FITC, klonas UCHT1), CD4 (PE-Cy<sup>™</sup>7, klonas SK3), CD8 (APC-Cy<sup>™</sup>7, klonas SK1), CD45RA (PerCP-Cy<sup>™</sup>5.5, klonas HI100), CD27 (APC, klonas M-T271), CD38 (PE, klonas HIT2). Mėginiai buvo analizuoti naudojant *FACS Canto* tėkmės citometrą (*BD Immunocytometry Systems, JAV*). T limfocitų populiacija buvo identifikuota ir jos santykinis dydis apskaičiuotas remiantis morfologinių savybių – ląstelių dydžio ir struktūriškumo, nustatytų pagal priekinę ir šoninę sklaidą, deriniu su CD3 raiška. Limfocitų populiacijų santykiniai dydžiai nustatyti vertinant populiacijai specifinių žymenų raišką, nurodant limfocitų populiacijos dydį procentais nuo T limfocitų populiacijos skaičiaus. Analizuotos šios populiacijos: CD4+/CD45RA+/CD27+; CD4+/CD45RA-/CD27+; CD4+/CD45RA+/CD27-; CD4+/CD45RA-/CD27-; CD8+/CD45RA+/CD27+; CD8+/CD45RA-/CD27+; CD8+/CD45RA+/CD27-; CD8+/CD45RA-/CD27-; CD8+/CD38+/CD3+; CD8+/CD38-/CD3+. Absoliutus T limfocitų ir jų populiacijų skaičiai apskaičiuoti naudojant bendrąją limfocitų skaičių, nustatytą automatiškai hematologine sistema *Sysmex XE-5000* (*Sysmex Corporation, Japonija*) ir santykinės (procentinės) reikšmės, nustatytas tėkmės citometrijos metodu.

## Statistinė analizė

Remiantis standartine baigtinės imties dydžio apskaičiavimo formule apskaičiuotas reikalingas imties tūris. Reikalingas imties tūris – 55 tiriamieji. Statistinė analizė atlikta naudojant *SPSS v.23.0 Statistical Package for the Social Sciences* (Čikaga, JAV). Naudoti aprašomosios ir analitinės statistikos metodai. Duomenų normalumas buvo vertintas Kolmogorovo ir Smirnovu testu. Normalųjį skirstinį tenkinantys duomenys pateikti kaip vidurkis ir standartinė vidurkio paklaida, normaliojo skirstinio netenkinantys – kaip mediana ir interkvartilinis intervalas. Kategoriniai kintamieji buvo lyginti naudojantis Pirsono (Pearson)  $\chi^2$  testu, tolydieji kintamieji naudojantis Mann-Whitney U testu. Koreliacijoms įvertinti – Spirmanio (Spearman) ranginės koreliacijos koeficientas. Dvireikšmė logistinė regresija naudota su dichotominiais kintamaisiais. Kai per dvireikšmę logistinę regresiją vertinti tolydieji kintamieji, jie perkoduoti į dviejų reikšmių kintamąjį, medianą naudojant kaip ribą tarp dviejų reikšmių. Rezultatai laikyti statistiškai reikšmingais, kai statistinis patikimumas (p) buvo < 0,05.

## REZULTATAI

### Tiriamųjų charakteristikos

Į tyrimą buvo įtraukti 113 pacientų. Penki iš jų vėliau iš tyrimo pašalinti (3 – nustačius ŽIV infekciją; 2 – skreplių pasėlyje identifikavus nebūdingas mikobakterijas). Vienas pacientas atsisakė toliau dalyvauti po pirmojo vizito dėl asmeninių priežasčių. Viso analizuoti 107 pacientai.

Ištirti 62 jautria vaistams TB sergantieji, 31 DVA-TB sergantieji, 14 mono- arba poli- atsparia vaistams TB sergantieji. 77 pacientai buvo vyrai, 30 – moterys. Duomenys nebuvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį, todėl rezultatuose pateikiama mediana ir interkvartilinis plotis. Demografiniai pacientų duomenys pateikiami 1 lentelėje.

### 1 lentelė. Demografiniai tirtų pacientų duomenys

	Jautri vaistams TB	Mono- arba poli- vaistams atspari TB	DVA-TB
Lytis vyrai / moterys	49 / 13	10 / 4	18 / 13
Amžius, metais, mediana [IQR]	37 [31,3–48]	37,25 [32,5–47,5]	29 [20–44]
Sėkmingas / nesėkmingas gydymas	53 / 9	12 / 2	28 / 3
Gyvena mieste / kaime	28 / 34	7 / 7	18 / 12
Išsilavinimas vidurinis arba žemesnis / aukštesnis nei vidurinis	38 / 24	8 / 6	16 / 15
Gyvena su šeima / vienišas	26 / 36	8 / 6	15 / 16
Dirba, mokosi / nedirba, pensijoje	29 / 33	7 / 7	13 / 18

IQR – interkvartilinis plotis; DVA-TB – daugeliui vaistų atspari tuberkuliozė; TB – tuberkuliozė.

### Tuberkuliozės mikobakterijų atsparumas vaistams nuo tuberkuliozės ir atsparumo vaistams įtaka skreplių pasėlio konversijai

Tarp tirtų pacientų DVA-TB nustatyta 28,7 proc. Atsparumas rifampicinui nustatytas 31 pacientui (28,7 proc.), atsparumas izoniazidui – 45 (42 proc.) pacientams. Mono-atsparumo rifampicinui nustatyta nebuvo, taigi, visiems pacientams, kuriems nustatytas atsparumas rifampicinui, buvo patvirtinta DVA-TB. Tarp tyrimo pacientų dalinis atsparumas bedakvilinui buvo nustatytas tik vienam pacientui. TM atsparumo linezolidui ir klofaziminui nenustatyta.

Bandyta įvertinti, kaip atsparumas vaistams veikia skreplių pasėlio konversiją po pirmojo TB gydymo mėnesio. Vertinant visas išskirtas grupes atskirai (jautri vaistams TB, mono- / poli- vaistams atspari TB, DVA-TB) statistiškai patikimo skirtumo nenustatyta. Suskirstius pacientus į dvi grupes (sergantys jautria vaistams TB ir rifampicinui atsparia TB) ir atlikus dvireikšmės logistinės regresijos analizę gauta, kad nustačius atsparumą rifampicinui rizika konversijai neįvykti po pirmojo mėnesio didėja (RR 39,13, PI 3,04–503,8, p = 0,005).

DVA-TB dalis, nustatyta tarp visų mūsų tirtų pacientų, yra reikšmingai didesnė nei bendra Lietuvoje nurodoma DVA-TB dalis tarp naujų TB atvejų (11,7 proc., remiantis 2018 m. Europos ligų prevencijos ir kontrolės centro (angl. *European Centre for Disease Prevention and Control*) pateikiamais duomenimis [17]). Nors

Romanių tuberkuliozės ligoninės pacientai turėtų gerai atspindėti situaciją tarp Kauno regiono pacientų, reikia atsižvelgti į tai, kad į tyrimą neįtraukti pacientai gydyti ambulatoriškai ir turintys neįtraukimo kriterijų, tokių kaip ŽIV infekcija arba kitos gretutinės ligos.

## **Skreplių pasėlio konversijai įtaką darantys veiksniai**

Atskirai įvertintos jautrios ir atsparios vaistams TB grupės, kad rezultatų neiškreiptų atsparumas vaistams ir taikomas gydymas.

Tarp tirtų pacientų visi buvo Lietuvos piliečiai, imigrantų iš kitų šalių nebuvo, visi neigė narkotikų vartojimą, tik vienas pacientas neturėjo nuolatinės gyvenamosios vietos, todėl šių veiksnių įtakos skreplių pasėlio konversijai iširti nepavyko.

## **Skreplių pasėlio konversijai įtaką darantys veiksniai gydant vaistams jautrią plaučių tuberkuliozę**

Iš 52 į šią grupę patekusių pacientų, skreplių pasėlio konversija po pirmojo gydymo mėnesio nustatyta mažesnei daliai: 20 pacientų (38,5 proc.). 32 (62,5 proc.) pacientams pasėlio konversija po pirmojo gydymo mėnesio neįvyko.

Veiksniai, kurie tarp vaistams jautrios TB pacientų statistiškai reikšmingai skyrėsi abiejose konversijos grupėse, buvo pacientų subjektyviai įsivertinta sveikatos būklė, SGRQ balai, skreplių mikroskopijos duomenys, krūtinės ląstos rentgenogramos skalės balų skaičius, albumino koncentracija kraujyje ir tai, ar pacientas rūkė daugiau, ar mažiau kaip 20 pakmečių. Atlikus dvireikšmės logistinės regresijos analizę, statistiškai reikšmingą įtaką skreplių pasėlio konversijai po pirmojo gydymo mėnesio turėjo prieš gydymą rastas RAB kiekis skreplių mikroskopijoje, krūtinės ląstos rentgenogramos skalės balų skaičius ir subjektyvus paciento sveikatos įsivertinimas. Vertinant statistiškai reikšmingai konversijos grupėse besiskiriančius veiksnius, kiekybinius ir ranginius kintamuosius perkodavus į binarinius, dvireikšmės logistinės regresijos analizė atlikta pakartotinai. Pritaikius žingsninės regresijos procedūrą, gautas optimalus modelis, kuriame liko trys požymiai. Modelio Nagelkerkės pseudodeterminacijos koeficientas – 0,578, teisingas klasifikavimas – 82,4 proc. Pacientai, kuriems prieš gydymą skrepliuose mikroskopiškai buvo nustatyta 2+ RAB arba 3+ RAB, lyginant su tais, kurių skrepliuose nustatyta mažiau RAB, turėjo 20,8 kartų didesnę riziką, kad po pirmojo TB gydymo mėnesio skreplių pasėlio konversija neįvyks. Skreplių pasėlio konversiją taip pat galėjo prognozuoti SGRQ klausimynas: pacientai, kurie šiame klausimyne surinko 30 arba daugiau balų, turėjo septynis kartus didesnę riziką, kad skreplių pasėlio konversija po pirmojo TB gydymo mėnesio neįvyks. Rūkymo anamnezė (daugiau kaip 20 pakmečių

rūkymo), skyrėsi statistiškai reikšmingai, bet vertinant atskirai, nebuvo statistiškai patikimas veiksnys prognozuojant skreplių pasėlio konversiją.

## **Skreplių pasėlio konversijai įtaką darantys veiksniai gydant daugeliui vaistų atsparią plaučių tuberkuliozę**

Atskirai tirta DVA-TB grupė, kuriai priklausė 31 pacientas. Trūko duomenų apie trijų pacientų konversiją (netinkamai paimtas arba nepaimtas skreplių ėminys). Konversija po 1 mėn. gydymo įvyko 11 pacientų, neįvyko – 17.

Kaip ir jautrios vaistams TB atveju, statistiškai reikšmingai abiejose grupėse skyrėsi RAB įvertis skreplių mikroskopijoje prieš pradedant gydymą ir apskaičiuota krūtinės ląstos rentgenogramos skalė. Skirtingai nei jautrios vaistams TB atveju, gydant DVA-TB statistiškai reikšmingai skyrėsi alkoholio vartojimo įpročiai abiejose konversijos grupėse.

Atlikus dvireikšmę logistinę regresiją DVA-TB grupėje nustatyta, kad reikšmingą įtaką skreplių pasėlio konversijai turėjo tik tai, ar pacientas buvo vartojantis alkoholi, ar ne. Pacientams, kurie stacionarizavimo metu teigė, kad vartojo alkoholi, buvo mažesnė tikimybė po pirmojo gydymo mėnesio nustatyti skreplių pasėlio konversiją (RR 48; 95 proc. PI 2,4–985,24; p = 0,01).

Duomenys apie mono- / poli- vaistams atsparios TB grupę atskirai nepateikiami, nes ši grupė buvo dar mažesnė, ir logistinės regresijos analizės laikotarpiu statistiškai reikšmingos veiksnių įtakos nenustatyta.

## **Skreplių pasėlio konversijai įtaką darantys veiksniai gydant plaučių tuberkuliozę**

Taip pat įvertintos visos TB grupės bendrai, neskirstant pagal atsparumą vaistams. Visoms šioms grupėms kartu priklausė 107 pacientai, trūko duomenų apie 10 pacientų skreplių konversiją. Tarp tirtų TB pacientų konversija įvyko 41 pacientui, neįvyko – 56.

Įvykusios ir neįvykusios skreplių pasėlio konversijos grupėse nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp gyvenamosios vietos, SGRQ balo, pakmečių skaičiaus, krūtinės ląstos rentgenogramos skalės balų skaičiaus ir RAB kiekio prieš gydymą. Vis tik, atlikus dvireikšmę logistinę regresiją gauta, kad konversijai statistiškai reikšmingą įtaką darė tik krūtinės ląstos rentgenogramos balas ir RAB kiekis prieš gydymą. Kiekvienas didesnis krūtinės ląstos rentgenogramos skalės balas didino konversijos neįvykimo riziką (RR 1,08; 95 proc. PI 1,02–1,14; p = 0,01); kiekvienas aukštesnis RAB įvertis (0; pavieniai; 1+; 2+; 3+) taip pat didino konversijos neįvykimo riziką (RR – 4,84; 95 proc. PI 1,95–12,04; p = 0,001).

Krūtinės ląstos rentgenogramos skalės balų skaičių ir RAB kiekį skrepliuose prieš pradedant TB gydymą sugrupavus į dvi grupes, kaip jautrios vaistams TB gru-



# Disertacijos

pėje, ir atlikus dvireikšmę logistinę regresiją, pastebėta, kad statistiškai reikšmingai konversijos neįvykimas po pirmojo gydymo mėnesio lėmė krūtinės ląstos rentgenogramos skalė, RAB kiekis skrepliuose prieš pradedant gydymą ir rūkymo pakmečių skaičius, kai jis viršija 20. Tarp kitų tirtų veiksnių statistiškai reikšmingos įtakos skreplių pasėlio konversijai po pirmojo gydymo mėnesio nerasta.

## Uždegimo žymenų gydant jautrią ir atsparią vaistams tuberkuliozę sąsajos su skreplių pasėlio konversija

Skreplių pasėlio konversija bendroje TB grupėje, neskirstant pacientų pagal nustatytą atsparumą vaistams nuo TB, po pirmojo gydymo mėnesio įvyko 41 pacientui, 56 pacientams neįvyko. Po 5 mėn. konversija neįvyko dviem pacientams, abu jie priklausė DVA-TB grupei, todėl statistiniai skaičiavimai su konversija po 5 mėn. neatlikti.

Vertinti uždegiminių žymenų koncentracijų skirtumai prieš gydymą įvykusios ir neįvykusios skreplių pasėlio konversijos grupėse (konversija vertinta po pirmojo gydymo mėnesio). Skirtingose konversijos grupėse CRB reikšmės tarp jautrios TB ir bendrosios TB grupės pacientų skyrėsi statistiškai reikšmingai. Šiose grupėse apskaičiuota, kad kai prieš pradedant TB gydymą buvo nustatyta normali CRB koncentracija, konversija įvyko dažniau ( $p < 0,05$ ). Didesni CRB įverčiai nustatyti, kai konversija neįvyko. sICAM-1 koncentracijos tarp visų TB grupių pacientų ir skirtingos konversijos baigčių grupių statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Prieš pradedant TB gydymą, suPAR koncentracijos bendroje TB grupėje nustatytos statistiškai reikšmingai didesnės tiems pacientams, kuriems skreplių pasėlio konversija po pirmojo gydymo mėnesio neįvyko, tačiau reikšmingų skirtumų nebuvo jautrios, mono- / poli- vaistams atsparios ir DVA-TB grupėse.

Atliekant dvireikšmės logistinės regresijos analizę, nustatyta, kad nei CRB, nei sICAM-1, nei suPAR koncentracijų kiekybiniai įverčiai prieš pradedant gydymą nuo TB, neturėjo statistiškai reikšmingos sąsajos su skreplių pasėlio konversija po pirmojo TB gydymo mėnesio.

## T limfocitų populiacijų sąsajos su tuberkuliozės gydymo baigtimis ir tuberkuliozės sukelta plaučių destruktija

### T limfocitų populiacijos ir tuberkuliozės gydymo baigtys

Gydymo baigtys vertintos atskirai jautrios TB grupėje (siekiant, kad rezultatų neiškreiptų skirtingas gydymas) ir bendrai tarp visų TB pacientų. Atskirai nevertintos mono- / poli- vaistams atsparios ir DVA-TB grupės dėl per mažo tiriamųjų skaičiaus. Šiam uždaviniui naudotos tik pradinės (prieš gydymą išmatuotos) T limfocitų populiacijų reikšmės.

Jautrios vaistams TB grupėje sėkminga gydymo baigtis (pasveikimas) nustatyta 53 pacientams, nesėkminga – 9 (gydymo nutraukimas (4) arba mirtis (5)). Vertinant jautrios vaistams TB grupę, tarp skirtingų gydymo baigčių pacientų rasti statistiškai reikšmingi, žemiau vardijamų limfocitų populiacijų skirtumai. Didesnis bendrasis limfocitų kiekis nustatytas pacientams, kurių gydymo baigtis buvo sėkminga ( $p = 0,001$ ). Taip pat nustatyta, kad nesėkmingos gydymo baigties pacientų grupėje statistiškai reikšmingai mažesnės buvo šios T limfocitų populiacijos: CD3+; CD4+; CD8+; CD4+/CD45RA+/CD27+; CD4+/CD45RA-/CD27+; CD8+/CD45RA+/CD27-; CD8+/CD45RA+/CD27+; CD8+/CD45RA-/CD27+; ir CD8+/CD38-. Lyginant procentinę T limfocitų populiacijų dalį tarp visų limfocitų pastebėta, kad procentinė CD4+/CD45RA-/CD27+, CD8+/CD45RA-/CD27+, ir CD8+/CD38- dalis buvo mažesnė nesėkmingos gydymo baigties pacientų grupėje. Vis tik, nenustatyta, kad kuri nors T limfocitų populiacija turėtų statistiškai reikšmingą įtaką jautrios vaistams TB gydymo baigčiai.

Vertinant TB bendrai ir neskirstant pagal atsparumą vaistams, skirtingų gydymo baigčių grupėse rasti statistiškai reikšmingi skirtumai ( $p < 0,05$ ) mažesnėje tirtų T limfocitų populiacijų dalyje (2 lentelė).

### 2 lentelė. T limfocitų populiacijų skirtumai tarp sėkmingos ir nesėkmingos gydymo baigties pacientų bendroje tuberkuliozės grupėje. Pateikiamos tik tos populiacijos, kurios reikšmingai skyrėsi gydymo baigčių grupėse

Limfocitų populiacija	Sėkminga gydymo baigtis, mediana [IQR] N = 86	Nesėkminga gydymo baigtis, mediana [IQR] N = 13
CD8+/CD45RA+/CD27+ (proc.)	26,5 [16,45–42,55]	17,1 [13,15–24,95]
CD8+/CD45RA+/CD27+ ( $\times 10^9/l$ )	0,11 [0,05–0,17]	0,04 [0,013–0,10]
CD4+/CD45RA+/CD27- (proc.)	0,85 [0,2–2,75]	2,0 [0,7–12,1]
CD8+/CD45RA-/CD27+ ( $\times 10^9/l$ )	23,85 [15,05–32,77]	13,7 [5,65–28,05]
CD8+/CD38- (proc.)	84,9 [73,0–90,57]	75,3 [43,8–84,3]
CD8+/CD38+ (proc.)	15,1 [9,42–27,0]	27,7 [15,7–56,2]

IQR – interkvartilinis plotis.

### T limfocitų populiacijos ir skreplių pasėlio konversija

Skreplių pasėlio konversija vertinta atskirai jautrios, mono- / poli- atsparios TB ir DVA-TB grupėje ir bendrai tarp visų TB pacientų. Naudotos tik pradinės (prieš gydymą išmatuotos) T limfocitų populiacijų reikšmės.

Jautrios vaistams ir bendroje TB grupėje reikšmingai skyrėsi bendras limfocitų kiekis tarp skirtingų konversijos po pirmojo gydymo mėnesio grupių ( $p < 0,05$ ). Bendroje TB grupėje didesnis limfocitų kiekis nusta-

tytas pacientams, kuriems skreplių pasėlio konversija įvyko (mediana 1,93 [1,31–2,35]) nei tiems, kuriems konversija neįvyko (mediana 1,6 [1,25–2,25]). Abiejose grupėse taip pat nustatyti reikšmingi kai kurių T limfocitų populiacijų skirtumai tarp konversijos grupių. Mono- / poli- vaistams atsparios ir DVA-TB grupėse reikšmingų T limfocitų populiacijų skirtumų tarp konversijos grupių nerasta.

Atlikus dvireikšmės logistinės regresijos analizę, rasta, kad ir bendroje, ir jautrios vaistams TB grupėje skreplių konversijai įtakos gali turėti CD8+/CD45RA-/CD27- (proc.) populiacija ir bendras limfocitų skaičius (proc.) (3 lentelė). Jautrios vaistams TB grupėje taip pat nustatyta kai kurių populiacijų įtaka konversijai (3 lentelė). Teisinga baigčių klasifikacija jautrios vaistams TB grupėje 76,8 proc; bendroje TB grupėje 68,2 proc.

Atlikus dvireikšmės logistinės regresijos analizę, šias populiacijas (CD8+/CD45RA-/CD27- (proc.); CD4+/CD45RA-/CD27- (proc.)) ir bendrą limfocitų skaičių procentais padalijus per medianą bendroje TB grupėje, gauta, kad, jei bendras limfocitų skaičius prieš pradedant gydymą viršija 21,45 proc. tarp visų leukocitų, konversijos įvykimo tikimybė padidėja maždaug keturis kartus. Jei CD8+/CD45RA-/CD27- prieš pradedant gydymą viršija 15,3 proc. tarp visų T limfocitų, skreplių pasėlio konversijos įvykimo tikimybė mažėja maždaug tris kartus (RR 3,249, PI 1,267–8,326, p = 0,014). CD4+/CD45RA-/CD27- populiacijos dydis turėjo įtakos skreplių pasėlio konversijai tik vaistams jautrios TB grupėje. Konversijos tikimybė sumažėjo 1,16 karto, jei CD4+/CD45RA-/CD27- populiacija prieš pradedant TB gydymą viršijo 12,6 proc. visų T limfocitų.

### T limfocitų populiacijų ir tuberkuliozės sukeltos plaučių destruktijos sąsajos

Šiam uždaviniui vertinti TB grupės neskirstytos pagal atsparumą. Naudoti T limfocitų populiacijų ir krūtinės ląstos rentgenogramos skalės įverčiai prieš pradedant plaučių TB gydymą ir po 5 mėn. TB gydymo. 4 lentelėje pateikiamos statistiškai reikšmingos sąsajos tarp pradinių rentgenogramos skalės ir T limfocitų populiacijų ir bendro limfocitų skaičiaus.

Kaip matoma (4 lentelė), stiprios sąsajos ( $\geq 0,7$ ) tarp limfocitų ir krūtinės ląstos rentgenogramos skalės pradinių įverčių

nerasta, bet nustatytos vidutinės, silpnos sąsajos.

Lyginant krūtinės ląstos rentgenogramos skalę, pakartotinai vertintą po 5 mėn., ir pradinius tėkmės citometrijos rezultatus, statistiškai reikšminga sąsaja matoma rečiau. Vidutinio stiprumo sąsaja nustatyta tarp krūtinės ląstos rentgenogramos skalės ir bendro limfocitų skaičiaus procentais ( $-0,408$ , p = 0,003); CD8+/CD38- (proc.) ( $-0,435$ , p = 0,002); CD8+/CD38+ (proc.) ( $0,435$ , p = 0,002). Lyginant krūtinės ląstos rentgenogramos skalės po 5 mėn. nuo gydymo pradžios ir limfocitų populiacijų po 5 mėn. sąsajas, statistiškai reikšmingų sąsajų nerasta.

**3 lentelė. Dvireikšmės logistinės regresijos analizė jautrios vaistams ir bendroje tuberkuliozės grupėje, vertinant, kurios iš tirtų T-limfocitų populiacijų turi reikšmingą įtaką skreplių pasėlio konversijos neįvykimui po pirmojo gydymo mėnesio. Pateikiamos tik tos populiacijos, kurios buvo statistiškai reikšmingos**

Limfocitų (sub) populiacija	Beta koeficientas	Standartinis nuokrypis	p reikšmė	Šansų santykis	95 proc. pasikliautinis intervalas	
Bendra TB grupė						
Limfocitų bendras skaičius (proc.)	-0,069	0,027	0,009	0,933	0,885	0,983
CD8+/CD45RA-/CD27- (proc.)	0,074	0,028	0,007	1,077	1,020	1,136
Jautrios vaistams TB grupė						
Limfocitų bendras skaičius (proc.)	-0,117	0,045	0,009	0,890	0,815	0,972
CD8+/CD45RA-/CD27- (proc.)	0,075	0,036	0,035	1,078	1,005	1,156
CD4+/CD45RA-/CD27- (proc.)	0,153	0,064	0,017	1,165	1,028	1,321

**4 lentelė. Statistiškai reikšmingos sąsajos tarp pradinių krūtinės ląstos rentgenogramos skalės ir limfocitų populiacijų dydžio bendroje tuberkuliozės grupėje neskirstant pagal atsparumą vaistams**

Limfocitų populiacija	Sąsaja su krūtinės ląstos rentgenogramos skale (Spirmano (Spearman) koreliacijos koeficientas)	p reikšmė
Bendras limfocitų skaičius ( $\times 10^9/l$ )	-0,355	0,001
Bendras limfocitų skaičius (proc.)	-0,625	< 0,001
CD3+ ( $\times 10^9/l$ )	-0,433	< 0,001
CD3+ (proc.)	-0,404	< 0,001
CD4+ ( $\times 10^9/l$ )	-0,419	< 0,001
CD8+ ( $\times 10^9/l$ )	-0,411	< 0,001
CD4+/CD45RA-/CD27+ (proc.)	0,265	0,018
CD4+/CD45RA-/CD27+ ( $\times 10^9/l$ )	-0,493	< 0,001
CD4+/CD45RA-/CD27- ( $\times 10^9/l$ )	-0,334	0,002
CD8+/CD45RA-/CD27+ ( $\times 10^9/l$ )	-0,46	< 0,001
CD8+/CD45RA-/CD27+ (proc.)	-0,229	0,041
CD8+/CD38- ( $\times 10^9/l$ )	-0,478	< 0,001
CD8+/CD38- (proc.)	-0,649	< 0,001
CD8+/CD38+ (proc.)	0,649	< 0,001

# Disertacijos

## IŠVADOS

Rūkantiems daugiau kaip 20 pakmečių, rizika neįvykti skreplių pasėlio konversijai po pirmojo TB gydymo mėnesio padidėjo. DVA-TB grupėje skreplių pasėlio konversijos neįvykimo rizika buvo didesnė alkoholi vartojantiems asmenims. Skreplių pasėlio konversijos sąsajų su kitais tirtais paciento socialiniais veiksniais, kūno masės indeksu ir gyvenimo kokybe nerasta.

Pacientams, kuriems nustatytas TM atsparumas rifampicinui, rizika neįvykti skreplių pasėlio konversijai po pirmojo gydymo mėnesio padidėjo 39 kartus. Vertinant atsparumą naujiems vaistams nuo TB patvirtintas tik vienas dalinio atsparumo bedakvilinui atvejais, linezolidui ir klofaziminui atsparumo nenustatyta.

Kuo didesnis TB išplitimas plaučiuose ir daugiau RAB skrepliuose prieš pradedant TB gydymą, tuo mažesnė skreplių pasėlio konversijos po pirmojo gydymo mėnesio tikimybė.

Skreplių pasėlio konversija TB sergantiesiems įvyko dažniau, kai prieš TB gydymą CRB nebuvo padidėjęs. Skreplių pasėlio konversijos sąsajų su uždegimo žymenų (CRB, sICAM-1, suPAR) koncentracijomis kraujyje prieš pradedant plaučių TB gydymą nerasta. Sąsajų tarp albumino, vitamino D koncentracijų kraujyje prieš gydymą ir skreplių pasėlio konversijos nerasta.

Po pirmojo TB gydymo mėnesio nustatytos bendro limfocitų skaičiaus ir jų CD8+/CD45RA-/CD27- populiacijos sąsajos su skreplių pasėlio konversijos dažniu. CD4+/CD45RA-/CD27- populiacijos dydis turėjo įtakos skreplių pasėlio konversijai jautrios vaistams TB grupėje. Nustatytas tiesioginis ryšys tarp CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD45RA-/CD27+, CD4+/CD45RA-/CD27-, CD8+/CD45RA-/CD27+, CD8+/CD38-, CD8+/CD38+ T limfocitų populiacijų ir plaučių pažeidimo apimtys, vertinant radiologiškai, bet T limfocitų ir jų populiacijų kiekio pokyčiai neturėjo įtakos TB gydymo baigtims.

## PRAKTIŠKOS REKOMENDACIJOS

Šiuo metu Lietuvoje atsparumo naujiems vaistams nuo TB praktiškai nenustatoma, bet, remiantis kitų šalių duomenimis, atsparumas šiems vaistams palaipsniui didėja, todėl tikslinga ir toliau tirti atsparumą šiems vaistams, gydant vaistams atsparią TB.

Svarbiausi veiksniai, leidžiantys prognozuoti skreplių pasėlio konversiją – rentgeninis plaučių pažeidimo išplitimas ir RAB kiekis skrepliuose prieš pradedant TB gydymą.

Mūsų nuomone, Anna P. Ralph ir kolegų pasiūlyta krūtinės ląstos rentgenogramos vertinimo skalė galėtų būti naudinga ir taikoma kasdieninėje klinikinėje praktikoje objektyvizuojant ir stebint radiologinį TB išplitimą ir gydymo veiksmingumą.

Sergantieji plaučių TB turėtų būti skatinami atsisaky-

ti rūkymo ir alkoholio vartojimo, nes šie žalingi įpročiai tiesiogiai susiję su blogesniais gydymo rezultatais.

Uždegiminiai žymenys suPAR, sICAM-1 galimai nenaudingi klinikinėje praktikoje norint prognozuoti skreplių pasėlio konversijos įvykimą po pirmojo TB gydymo mėnesio.

Vertinant TB gydymo rezultatus, nespecifinių T limfocitų populiacijų tyrimas nebuvo naudingas nei bendro limfocitų kiekio matavimas, todėl manytina, kad šie tyrimai greičiausiai nebus naudingi klinikinėje praktikoje. Šiems rezultatams patvirtinti reikėtų atlikti išsamesnius tyrimus su didesnėmis tiriamųjų grupėmis.

## STRAIPSNIAI, KURIOSE PASKELBTI DISERTACIJOS REZULTATAI

1. **Musteikienė G, Miliauskas S, Zaveckienė J, Žemaitis M, Vitkauskienė A.** Factors associated with sputum culture conversion in patients with pulmonary tuberculosis. *Medicina (Kaunas)*. 2017; 53(6):386–93.
2. **Musteikienė G, Miliauskas S, Zaveckienė J, Urbonienė D, Vitkauskienė A, Žemaitis M, Naudžiūnas A.** Is analysis of inflammatory biomarkers and lymphocyte populations useful in prediction of tuberculosis treatment outcomes? *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 2021; 25:100275.
3. **Kaniga K, Hasan R, Jou R, Vasiliauskienė E, Chuchottaworn C, Ismail N, Metchock B, Miliauskas S, Viet Nhung N, Rodrigues C, Shin S, Simsek H, Smithtikarn S, Le Thi Ngoc A, Boonyasopun J, Kazi M, Kim S, Kamolwat P, Musteikiene G, Sacopon CA, Tahseen S, Vasiliauskaitė L, Wu MH, Vally Omar S.** J Bedaquiline Drug Resistance Emergence Assessment in MDR-TB (DREAM): a 5-Year Prospective In-Vitro Surveillance Study of Bedaquiline and Other Second-Line Drug-Susceptibility Testing in MDR-TB Isolates. *Clin Microbiol*. 2021; JCM0291920.

## LITERATŪRA

1. **Weiss B, Chen W, Cook VJ, Johnston JC.** Treatment outcomes from community-based drug resistant tuberculosis treatment programs: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2014; 14(1):1–9.
2. **Migliori GB, Sotgiu G, Gandhi NR, Falzon D, DeRiemer K, Centis R, et al.** Drug resistance beyond extensively drug-resistant tuberculosis: individual patient data meta-analysis. *Eur Respir J*. 2013; 42(1):169–79.
3. **Prevention EC for D, regional office for Europe.** C. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020-2018 data. Stockholm: ECDC; 2020.
4. **Zablockis R, Danila E, Miliauskas S, Malakauskas K, Davidavičienė E, Vasiliauskienė E, et al.** Plaučių tuberkuliozės diagnostikos ir gydymo rekomendacijos. Vilnius: Eventas. 2018.
5. **Zumla A, Wallis R, Doherty M, Klein N, Parida S, Olesen O, et al.** Joint TDR/EC expert consultation on biomarkers in tuberculosis: Report of the joint TDR/EC expert consultation to evaluate the potential roles of biomarkers in the management of HIV-infected and HIV-uninfected patients with tuberculosis. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2008.
6. **Wallis R, Johnson J.** Surrogate markers to assess clinical efficacy of new antituberculous drugs. The development of new antituberculosis drugs Hauppauge, NY: Nova Science Publishers. 2006; 95–113.
7. **Fox W, Ellard GA, Mitchison DA.** Studies on the treatment of tuberculosis undertaken by the British Medical Research Council tuberculosis units, 1946-1986, with relevant subsequent publications. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1999; 3(10,2):S231–79.
8. **Lienhardt C, Lönnroth K, Menzies D, Balasegaram M, Chakaya J, Cobelens F, et al.** Translational Research for Tuberculosis Elimination: Priorities, Challenges, and Actions. *PLoS Med*. 2016; 13(3):e1001965.
9. **Fox KA, Kirwan DE, Whittington AM, Krishnan N, Rob-**

- ertson BD, Gilman RH, et al.** Platelets regulate pulmonary inflammation and tissue destruction in tuberculosis. *American journal of respiratory and critical care medicine. Am J Respir Crit Care Med.* 2018; 198(2):245–55.
10. **Goletti D, Petruccioli E, Joosten SA, Ottenhoff TH.** Tuberculosis biomarkers: from diagnosis to protection. *Infect Dis Rep.* 2016; 8(2):24–32.
  11. **Goletti D, Lee M-R, Wang J-Y, Walter N, Ottenhoff TH.** Update on tuberculosis biomarkers: from correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. *Respirology.* 2018; 23(5):455–66.
  12. **Kurbatova EV, Cegielski JP, Lienhardt C, Akksilp R, Bayona J, Becerra MC, et al.** Sputum culture conversion as a prognostic marker for end-of-treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis: a secondary analysis of data from two observational cohort studies. *Lancet Respir Med.* 2015; 3(3):201–9.
  13. **Eugen-Olsen J, Gustafson P, Sidenius N, Fischer T, Parner J, Aaby P, et al.** The serum level of soluble urokinase receptor is elevated in tuberculosis patients and predicts mortality during treatment: a community study from Guinea-Bissau. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6(8):686–92.
  14. **Schulman H, Niward K, Abate E, Idh J, Axenram P, Bornefall A et al.** Sedimentation rate and suPAR in relation to disease activity and mortality in patients with tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Int J Tuberc Lung Dis.* 2019; 23(11):1155–61.
  15. **Wei Z, Li Y, Wei C, Li Y, Xu H, Wu Y, et al.** The meta-analysis for ideal cytokines to distinguish the latent and active TB infection. *BMC Pulm Med.* 2020; 20(1):1–12.
  16. **Ralph AP, Ardian M, Wiguna A, Maguire GP, Becker NG, Drogumuller G, et al.** A simple, valid, numerical score for grading chest x-ray severity in adult smear-positive pulmonary tuberculosis. *Thorax.* 2010; 65(10):863–9.
  17. **ECDC.** Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2021. ECDC, editor. ECDC; 2021.

## Eozinofilų poveikis tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiškai, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiliškumui ir migracijai sergant astma

THE EFFECT OF EOSINOPHILS ON GENE EXPRESSION OF EXTRACELLULAR MATRIX PROTEINS, CONTRACTILITY AND MIGRATION OF AIRWAY SMOOTH MUSCLE CELLS AND PULMONARY FIBROBLASTS IN ASTHMA

IEVA JANULAITYTĖ

LSMU MA MF Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija

**Santrauka.** 2022 m. rugpjūčio 24 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto viešajame biologijos mokslo krypties tarybos posėdyje Ieva Janulaitytė sėkmingai apgynė daktaro disertaciją „Eozinofilų poveikis tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiškai, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiliškumui ir migracijai sergant astma“. Disertacija rengta 2017–2021 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. Edgaras Stankevičius, pirmininkas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

dr. Paulina Vaitkienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas);

prof. dr. Algimantas Paulauskas (Vytauto Didžiojo universitetas);

prof. dr. Linas Mažutis (Vilniaus universitetas);

doc. dr. Florence Schleich (Lježo universitetas).

**Summary.** Ieva Janulaitytė successfully defended a doctoral dissertation „The effect of eosinophils on gene expression of extracellular matrix proteins, contractility and migration 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 24th of August, 2022. 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 2017–2021. 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. Edgaras Stankevičius, chairperson (Lithuanian University of Health Sciences);

Dr. Paulina Vaitkienė (Lithuanian University of Health Sciences);

Prof. Dr. Algimantas Paulauskas (Vytautas Magnus University);

Prof. Dr. Linas Mažutis (Vilnius University);

Assoc. Prof. Dr. Florence Schleich (University of Liege).

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1018>

**IVADAS**

Astma yra nevienalytė ir sudėtinga liga, kuriai būdingas sutrikęs kvėpavimo takų audinių atsigavimas, susijęs su vietiniu uždegimu ir padidėjusiu jautrumu,

nulemiančiu pasikartojančius kosulio epizodus, švokštimą, dusulį ir spaudimą krūtinėje [1]. Lėtinis kvėpavimo takų uždegimas su ryškia kraujo ir kvėpavimo takų eozinofilija yra esminis astmos bruožas. Kvėpavimo

takų eozinofilija susijusi su dažniais astmos paūmėjimais ir intensyvesniu gydymu [2]. Eozinofilai yra granulocitai, kurių brendimą kaulų čiulpuose aktyvina 2-ojo tipo uždegimo metu gausiai išskiriami citokinai [3]. Astmos metu eozinofilai migruoja iš periferinio kraujo į pažeidimo vietą, prilimpa prie struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių, pavyzdžiui, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių (BLRL) ir plaučių fibroblastų (PF), ir išskiria įvairias biologiškai aktyvias medžiagas ir citokinus. Manoma, kad šios gausiai eozinofilų išskiriamos medžiagos gali reikšmingai prisidėti prie kvėpavimo takų remodeliavimosi sergant astma.

Kvėpavimo takų remodeliavimas apibūdinamas kaip didžiųjų ir mažųjų kvėpavimo takų ląsteliniai ir tarpląstelinio užpildo pokyčiai: epitelio ląstelių apoptozė, kvėpavimo takų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacija ir fibroblastų aktyvacija [4]. Šiuos patologinius kvėpavimo takų pokyčius lemia skirtingų ląstelių rūšių aktyvinimas kvėpavimo takų sienelėje ir gleivinėje. Kvėpavimo takų sienelės sustorėjimas yra viena svarbiausių remodeliavimosi, kuri lemia padidėjusi BLRL ir PF proliferacija, aktyvacija bei sutrikusi tarpląstelinio užpildo baltymų apykaita, savybė. Tarpląstelinio užpildo baltymai nustato audinių architektūrą, suteikdami mechaninio stabilumo ir elastingumo, kurie reikalingi normaliai plaučių funkcijai. Struktūriniai kvėpavimo takų pokyčiai yra patologiniai požymiai, prisidedantys prie klinikinio astmos pasireiškimo: bronchų spindžio susiaurėjimo, švokštimo, dusulio. Uždegiminių ir struktūrinių ląstelių tarpusavio ryšiai sudaro tinkamas sąlygas lėtiniam uždegimui. Įrodyta, kad profibrozinis citokinas, transformuojamasis augimo veiksnys beta (angl. *transforming growth factor beta*, TGF- $\beta$ ) dalyvauja pagrindiniuose astmos remodeliavimosi procesuose, įskaitant didžiųjų ir mažųjų kvėpavimo takų ląstelinius ir struktūrinius pokyčius [12]. Eozinofilai, BLRL ir PF gamina neaktyvintą TGF- $\beta$  formą, kuri kaupiasi tarpląsteliniam užpilde kaip latentinis kompleksas, o aktyvinta TGF- $\beta$  forma gali autokriniškai ir parakriniškai reguliuoti struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių tarpląstelinio užpildo baltymų gamybą ir ardymą [13]. Be to, užpildo metaloproteinazės (MMP), pavyzdžiui, MMP-2 ir MMP-9, skaido latentinius TGF- $\beta$  kompleksus, taip padidindamas aktyvintos TGF- $\beta$  formos kiekius tarpląsteliniam užpilde [7].

Sergant astma tarpląstelinio užpildo komponentų, pavyzdžiui, kolageno, elastinių skaidulų, fibronektino ir versikano, apykaita kvėpavimo takuose yra sutrikusi. Tarpląstelinio užpildo homeostazė yra esminė organizmo vystymosi ir žaizdų gijimo dalis, o tarpląstelinio užpildo baltymų kaupimasis ir sutrikęs baltymų ardymas sukuria patologines sąlygas ląstelėms. Tarpląstelinio užpildo homeostazę reguliuoja MMP, skaidantys tarpląstelinio užpildo baltymus, ir audinių metaloproteinazių inhibitoriai (angl. *tissue*

*metalloprotease inhibitor*, TIMP), moduliuojantys MMP aktyvumą. Mikroaplinkos pokyčiai sukelia struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių elgesio pokyčius. Sergant astma, kokybiniai ir kiekybiniai tarpląstelinio užpildo baltymų pokyčiai yra dalis kvėpavimo takų remodeliavimosi procesų, prisidedančių prie astmos patogenezės.

TGF- $\beta$  signalinis kelias susideda iš kanoninio (nuo Smad priklausomas) ir nekanoninio kelių, kurie prideda, kai latentinis TGF- $\beta$  kompleksas suaktyvinamas veikiant MMP [8]. Aktyvintas TGF- $\beta$  jungiasi prie išorinėje ląstelių membranoje esančių TGF- $\beta$  receptorių. Tada Smad 2, Smad 3 ir Smad 4 signalizacija aktyvina kanoninio arba nekanoninio signalinio kelio molekules, kurios lemia citokinų transkripciją, tarpląstelinio užpildo baltymų sintezę ir aktino polimerizaciją [9]. Eozinofilų skatinama TGF- $\beta$  signalinio kelio elementų raiška ir inhibicinių molekulių raiškos slopinimas susijęs su aktyviu TGF- $\beta$  signaliniu keliu ląstelėse [10].

BLRL ir PF yra sintetiškai ir mechaniškai aktyvios ląstelės, kurios greitai reaguoja į kvėpavimo takų uždegimą ir pakeičia savo įprastą funkciją: gamina įvairius biologiškai aktyvius mediatorius, tarpląstelinio užpildo baltymus, didėja susitraukimas (kontraktiliškumas) ir migracija. Pakitęs BLRL ir PF kontraktiliškumas ir migracija yra vienas svarbiausių kvėpavimo takų uždegimo procesų, prisidedančių prie kvėpavimo takų remodeliavimosi sergant astma. Ankstesni tyrimai parodė, kad astma sergančiųjų BLRL skiriasi nuo nesergančiųjų astma, nes yra hiperkontraktiliniai, hiperproliferaciniai ir hipersekreciniai [11]. BLRL susitraukimo ir atsipalaidavimo dinamika atlieka pagrindinę kvėpavimo takus susiaurinančią funkciją sergant astma [12]. BLRL susitraukimas ir migracija yra glaudžiai susiję procesai, nes migravimas susijęs su labai konservatyviais molekuliniais mechanizmais, koordinuojančiais susitraukimą [12]. Padidėjusi astma sergančiųjų žmonių kvėpavimo takų BLRL masė siejama su intensyvesne proliferacija ir migracija. Bronchų sienelė taip pat storėja ir dėl PF proliferacijos, migracijos ir tarpląstelinio užpildo kaupimosi. PF yra pagrindinės ląstelės, atsakingos už tarpląstelinio užpildo baltymų apykaitą kvėpavimo takuose. Be to, PF migruoja į uždegimo vietą ir yra pagrindinės ląstelės, atsakingos už žaizdų gijimą. Įrodyta, kad migruojantys PF diferencijuojasi į miofibroblastus, kurie susitraukia ir gamina itin daug tarpląstelinio užpildo baltymų, taip sukeldami audinių fibrozę [13]. Miofibroblastams taip pat būdinga didesnis kiekis židininės adhezijos vietų, ląstelių-ląstelių jungčių ir intensyvesnė  $\alpha$ -sm-aktino raiška [14]. Be to, BLRL ir PF išskiria daugybę augimo veiksnių ir citokinų, kurie skatina kvėpavimo takų uždegimą [15]. Taigi, BLRL ir PF atlieka svarbų vaidmenį kvėpavimo takų remodeliavime sergant astma.

Disertacijoje iškelta hipotezė, kad astma sergančiųjų

# Disertacijos

jų eozinofilai veikia tarpląstelinio užpildo baltymų ir jų apykaitą reguliuojančių baltymų genų raišką, TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raišką BLRL ir PF, ir šių ląstelių kontraktiškumą, migraciją ir diferenciaciją.

**Tikslas:** įvertinti eozinofilų poveikį tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiškai, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumui ir migracijai sergant astma.

## Uždaviniai:

1. Įvertinti eozinofilų poveikį tarpląstelinio užpildo baltymų, užpildo metaloproteinazių ir metaloproteinazių audinių inhibitorių genų raiškai bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose sergant astma.
2. Nustatyti eozinofilų poveikį kanoninio ir nekanoninio TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raiškai bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose.
3. Ištirti eozinofilų įtaką bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumui, migracijai ir kontraktilinių baltymų genų raiškai.

## Tyrimo naujumas

Šis tyrimas suteikia naujų žinių apie astma sergančiųjų eozinofilų poveikį bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms ir plaučių fibroblastams: (1) eozinofilų sukeltą tarpląstelinio užpildo baltymų apykaitos molekulių genų raiškos BLRL ir PF sutrikdymą; (2) eozinofilų skatinamą TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raišką BLRL ir PF; (3) eozinofilų skatinamą BLRL ir PF kontraktiškumą, migraciją ir šių struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių diferenciaciją į kontraktilinių ląstelių fenotipą, pasitelkiant tiriamųjų eozinofilų ir BLRL, PF sudėtines kultūras.

Šis tyrimas suteikia daugiau informacijos apie astmos gydymo tikslą – eozinofilų kiekio mažinimą, jų adhezinių savybių blokavimą ir TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių inaktyvinimą siekiant sumažinti kvėpavimo takuose vykstančius remodeliavimosi pokyčius. Vienintelis gerai žinomas eozinofilijos gydymas pagrįstas jų išsekiniu užblokavus eozinofilų brendimą kaulų čiulpuose; tačiau jis nelabai veiksmingas ir sukelia ryškų šalutinį poveikį. Tyrimo naujumas yra tyrimo metodai, uždaviniams pasiekti naudoti iš įvairaus sunkumo astmos pacientų kraujo išskirti eozinofilai sudėtinėse kultūrose su BLRL ir PF ląstelių linijomis, rodančiomis skirtingą eozinofilų poveikį jų tarpląstelinio užpildo genų raiškai, TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raiškai, ląstelių kontraktiškumui, migracijai ir diferenciacijai. Šis tyrimo modelis imituoja *in vivo* procesus. Taip pat, šie tyrimai praplečia supratimą apie struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių ir eozinofilų išskiriamo TGF- $\beta$  svarbą kvėpavimo takų remodeliavimuisi sergant astma.

## METODAI

Tyrimas vykdytas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (LSMU) Medicinos akademijos Medicinos fakulteto Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorijoje. Pacientų atranka ir klinikinis ištyrimas vykdytas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje, gavus LSMU Regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimą numeriu BE-2-13 ir Valstybinės duomenų apsaugos inspekcijos leidimą numeriu 2R-7192 (2.6-1).

Tyrimas taip pat registruotas [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) puslapyje, identifikacijos numeris NCT03388359.

Tyrimas buvo prospektyvinis, trukęs nuo 2017 m. rugsėjo 1 d. iki 2021 m. rugpjūčio 31 d. Į tyrimą įtraukti tik tie tiriamieji, kurie pasirašė informuoto asmens formą. Visi alergine astma (AA) ir sunkia nealergine eozinofiline astma (SNEA) sergantys asmenys buvo tiriami ir gydomi Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Pulmonologijos klinikoje. Sveiki asmenys (SA) dalyvavo tyrime kontrolinėje grupėje ir visi jie buvo savanoriai.

Į tyrimą įtraukti iš viso 95 tiriamieji. Nerūkantys 18–80 metų amžiaus vyrai ir moterys, sergantys nesunkia, įkvėpiamais gliukokortikoidais (IGK) negydyta alergine astma, toliau AA – viso 39 asmenys, sergantys sunkia nealergine eozinofiline astma, toliau SNEA – 20, ir 36 sveiki asmenys (SA) kaip kontrolinė grupė. Detalūs tiriamųjų demografiniai ir klinikiniai duomenys pateikiami skiltyje Rezultatai (1 ir 2 lentelėse).

## Tyrimo eiga

Visi tiriamieji prieš pradėdami tyrimus atitiko įtraukimo kriterijus, pasirašė informuoto asmens sutikimo formas. Tuomet jie buvo kviečiami atvykti ne anksčiau kaip trys dienos ir ne vėliau kaip dvi savaitės po įtraukimo kriterijų patvirtinimo. SNEA pacientai ir dalis SA ( $n = 11$ ) buvo pakviesti atvykti tyrimams vieną kartą, visi AA sergantieji ir dalis SA ( $n = 25$ ) buvo kviečiami atvykti du kartus – prieš ir 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu.

Pirmo vizito metu iš visų tiriamųjų buvo paimtas periferinis kraujas, pamatuotas FEV<sub>1</sub> ir FeNO. Detalūs tiriamųjų asmenų ištyrimas apibūdintas publikacijose [16–19]. Taip pat, pateikiamas išsamus eksperimentinis tyrimų planas 1 paveiksle.

## REZULTATAI

### Demografiniai ir klinikiniai tirtų asmenų duomenys

Į tyrimą įtraukti iš viso 95 tiriamieji (42 vyrai ir 53 moterys), iš kurių 39 buvo sergantys AA, 20 sergančių SNEA ir 36 SA. Visiems 39 sergantiems AA ir 25 SA atlikta bronchų provokacija *D. pteronyssinus* alergenu. SNEA sergantys asmenys išsiskyrė statistiškai reikšmingai vyresniu amžiumi, blogesne plaučių funkcija,

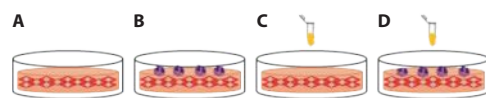


**1 pav. Išsamus eksperimentinis tyrimo planas**

BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelės; PF – plaučių fibroblastai.

didesne procentine kraujo eozinofilija, FeNO nei AA ir SA,  $p < 0,05$ . AA sergančių asmenų IgE buvo reikšmingai didesnis, lyginant su SNEA ir SA,  $p < 0,05$ . Išsamūs tirtų asmenų duomenys pateikiami 1 lentelėje.

Bronchų provokacija *D. pteronyssinus* alergenu atlikta visiems AA sergantiems ir sveikiems asmenims (3 lentelė). Reikšmingas eozinofilų skaičiaus, imunoglobulino E koncentracijos kraujyje ir indukuotų skreplių ląstelių gyvybingumas, indukuotuose skrepliuose padidėjimas nustatytas AA grupėje po provokacijos alergenu,  $p < 0,05$ . FeNO buvo reikšmingai didesnis



Periferinis kraujas eozinofilų išskyrimui ir serumas surinktas iš visų tiriamųjų ir sudarytos kombinuotosios kultūros su BLRL ir PF tokiu principu: A – kontrolinės BLRL / PF; B – BLRL / PF ir tiriamųjų eozinofilų kombinuotos kultūros; C – BLRL / PF ir tiriamųjų serumas (2 proc. v./v.); D – BLRL / PF ir tiriamųjų eozinofilų ir serumo kombinuotosios kultūros.

AA grupėje abiejų vizitų metu, lyginant su SA grupe,  $p < 0,05$ . Reikšmingų skirtumų sveikų asmenų grupėje nenustatyta.

### Tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiška bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose

Nustatyta, kad AA eozinofilai reikšmingai skatina kolageno I, kolageno III, fibronektino, vitronektino, periostino ir vimentino genų raiškas BLRL ląstelėse, lyginant su kontrolinėmis BLRL (2 pav. A).



# Disertacijos

AA ir SNEA tiriamųjų eozinofilai reikšmingai padidino kolageno I, kolageno V, fibronektino, dekorino ir vitronektino genų raiškas BLRL ląstelėse, lyginant su SA eozinofilų poveikiu. Taip pat, AA eozinofilai reikšmingai didino kolageno III geno raišką BLRL, lyginant su SA eozinofilų poveikiu. Kolageno I ir fibronektino genų raiška BLRL ląstelėse buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su SNEA eozinofilais nei su AA eozinofilais.

Alerginė astma sergančiųjų eozinofilai reikšmingai didino elastino, versikano ir dekorino genų raiškas PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu, kai SNEA eozinofilai skatino kolageno I, kolageno III, elastino ir dekorino bei mažino vitronektino genų raiškas PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu (2 pav. B). Taip pat, AA ir SNEA eozinofilai reikšmingai mažino tenaskino C geno raišką PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.

Alergenų aktyvinti eozinofilai reikšmingai skatino kolageno I, fibronektino, elastino ir periostino genų raiškas BLRL, lyginant su neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu.

## MMP ir TIMP genų raiška bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose

SNEA eozinofilai reikšmingai didino MMP-2 ir MMP-9 genų raiškas BLRL, lyginant su kontrolinėmis BLRL,  $p < 0,05$  (4 pav. A). ADAM33 geno raiška BLRL ląstelėse buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su visų tiriamųjų grupių eozinofilais, tačiau SNEA eozinofilų poveikis buvo reikšmingiausias, lyginant su kitomis tiriamųjų grupėmis,  $p < 0,05$ . MMP-12 geno raiška po inkubacijos su AA eozinofilais buvo reikšmingai didesnė nei po inkubacijos su SA arba SNEA eozinofilais,  $p < 0,05$  (4 pav. B). ADAM33 geno raiška PF buvo reikšmingai didesnė, lyginant su SA eozinofilų poveikiu PF,  $p < 0,05$ .

Alergenų aktyvinti eozinofilai reikšmingai skatino MMP-12 ir ADAM33 genų raiškas BLRL ląstelėse, lyginant su neaktyvintų eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ . Taip pat, alergenų aktyvinti eozinofilai neturėjo reikšmingo skatinamojo poveikio MMP genų raiškoms PF, lyginant su neaktyvintų eozinofilų poveikiu. TIMP-1 ir TIMP-2 genų raiška BLRL ir PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su astma sergančiųjų asmenų eozinofilais, lyginant su SA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ .

**1 lentelė. Demografiniai ir klinikiniai tirtų asmenų duomenys**

	AA, n = 39	SNEA, n = 20	SA, n = 36
Amžius, mediana (min.–maks.), metai	25 (18–47)#	50 (28–80)*	27 (18–59)
Lytis, (V/M), n	18 / 21	10 / 10	14 / 22
KMI, kg/m <sup>2</sup>	24,7 (17,3–40,1)	26,8 (17,5–37,3)	24,0 (17,0–34,4)
Įsijautrinimas <i>D. pteronyssinus</i> / <i>D. farinae</i> / beržų / penkių žolių alergenai, n	39 / 32 / 17 / 19	NR	NR
Papulės diametras sukeltas <i>D. pteronyssinus</i> alergeno, mediana (min.–maks.), mm	8 (4–15)	0	0
PD <sub>20M</sub> , geometrinis vidurkis (min.–maks.), mg	0,12 (0,03–0,41)	ND	NR
FEV <sub>1</sub> , proc. būtinio dydžio	88,9 ± 2,0*#	55,8 ± 6,1*	103,9 ± 1,7
FEV <sub>1</sub> , l	3,7 ± 0,1#	1,8 ± 0,3*	4,0 ± 0,1
Kraujo eozinofilų skaičius, × 10 <sup>9</sup> /l	0,50 ± 0,05*	0,70 ± 0,10*	0,19 ± 0,01
Kraujo eozinofilų skaičius, proc.	5,4 ± 0,6*#	10,5 ± 2,0*	2,9 ± 0,3
IgE, IU/ml	316,0 ± 122,4*#	196,7 ± 49,7*	22,8 ± 3,4
FeNO, ppb	46,7 ± 6,7*#	59,0 ± 5,1*	12,9 ± 0,7

Duomenys pateikti mediana (ribos), geometriniais vidurkiu (ribos), arba vidurkiu ± standartinis vidurkio nuokrypiu. AA NR – alerginė astma; FeNO – azoto monoksido frakcija iškvepiamajame ore; FEV<sub>1</sub> NR – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; IgE NR – imunoglobulinas E; M – moterys; NR – nebuvo atsako; ND NR – neatlikta; PD<sub>20M</sub> NR – provokacinė metacholino dozė, nulėmusi FEV<sub>1</sub> sumažėjimą 20 proc.; SA NR – sveiki asmenys; SNEA NR – sunki nealerginė eozinofilinė astma; V NR – vyrai.

\* $p < 0,05$ , palyginus su sveikų asmenų grupe. # $p < 0,05$ , palyginus su SNEA grupe. Statistinė analizė – skirtumams lyginti (nepriklausomų grupių duomenis) Mann-Whitney U-testas.

**2 lentelė. Klinikiniai tirtų asmenų duomenys 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenais**

	AA, n = 39		SA, n = 25	
	1 vizitas	2 vizitas	1 vizitas	2 vizitas
Kraujo eozinofilų skaičius, × 10 <sup>9</sup> /l	0,50 ± 0,05*	0,58 ± 0,05*#	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Kraujo eozinofilų skaičius, proc.	5,4 ± 0,6*	6,6 ± 0,5*#	2,8 ± 0,2	2,7 ± 0,3
IgE, IU/ml	316,0 ± 122,4*	401,7 ± 118,0*#	25,9 ± 4,1	24,0 ± 4,3
FeNO	59,0 ± 5,1*	68,7 ± 7,2*	12,5 ± 0,9	12,5 ± 1,0

Duomenys pateikti vidurkiu ± standartinis vidurkio nuokrypis. AA – alerginė astma; IgE – imunoglobulinas E; FeNO – azoto monoksido frakcija iškvepiamajame ore; SA – sveiki asmenys; 1 vizitas – prieš bronchų provokaciją alergenais; 2 vizitas – 24 val. po bronchų provokacijos alergenais.

\* $p < 0,05$ , palyginus su SA to paties vizito metu. # $p < 0,05$ , palyginus su pirmo apsilankymo rezultatu toje pačioje grupėje.

Statistinė analizė – skirtumams toje pačioje grupėje, lyginant duomenis prieš ir 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenais – Wilcoxon suderintų porų ranginis testas.

Alergenų aktyvinti eozinofilai reikšmingai sumažino TIMP-1 geno raišką PF, lyginant su alergenais neaktyvintų eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ .

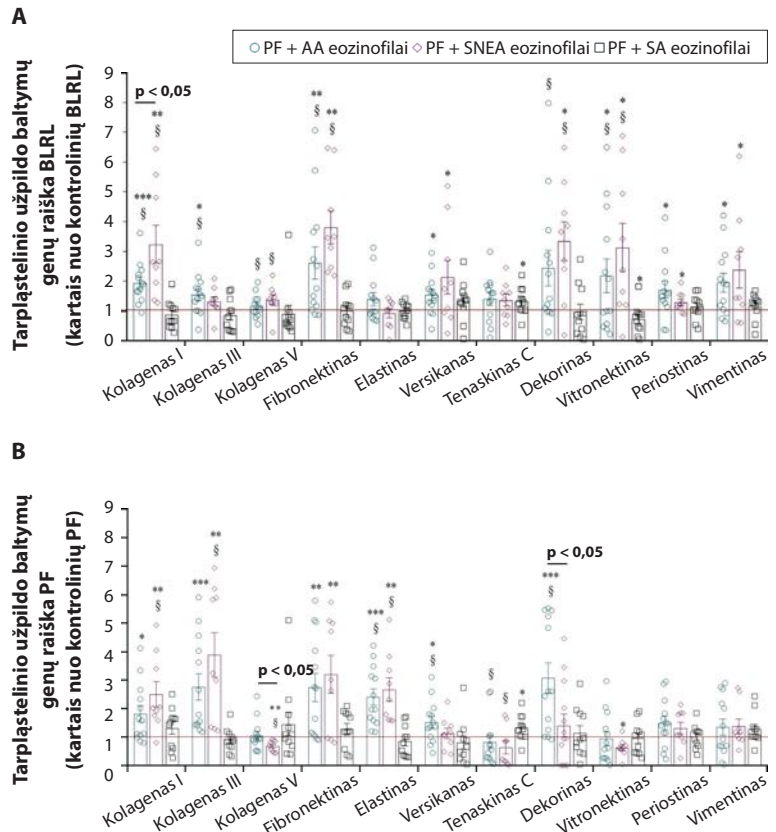
## TGF-β1 signalinio kelio molekulių genų raiška bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose

AA eozinofilų poveikis buvo reikšmingai didesnis TGF-β1, o SNEA eozinofilų – TGF-β1, LTBP1, LTBP3 genų raiškoms BLRL, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.

kiu (5 pav. A). TGF- $\beta$ 2 geno raiška PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su AA ir SNEA eozinofilais nei SA eozinofilais, o LTBP2 ir LTBP3 genų raiškos PF – po inkubacijos su SNEA eozinofilais, lyginant su SA eozinofilais. AA eozinofilai reikšmingai skatina TGFBRAP1 geno raišką BLRL ir ACVR1, ACVR1B, ACVR2A, TGFBR2 genų raiškas PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu (5 pav. B).

Taip pat, SNEA eozinofilų poveikis buvo reikšmingai didesnis ACVR1B, ACVR1C, ACVR2A, TGFBR1, TGFBRAP1 genų raiškai BLRL ir ACVR1, ACVR1B, ACVR2A, TGFBR2, TGFBR3, TGFBRAP1 genų raiškai PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu. AA eozinofilų poveikis Smad 5 geno raiškai BLRL ir Smad 1/2/3/4/7 genų raiškoms PF buvo reikšmingai didesnis nei SA eozinofilų. O SNEA eozinofilai reikšmingai didina Smad 2/3/4/7 genų raišką BLRL ir Smad 1/2/3/4/5/7 genų raišką PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu (5 pav. C; 6 pav. C).

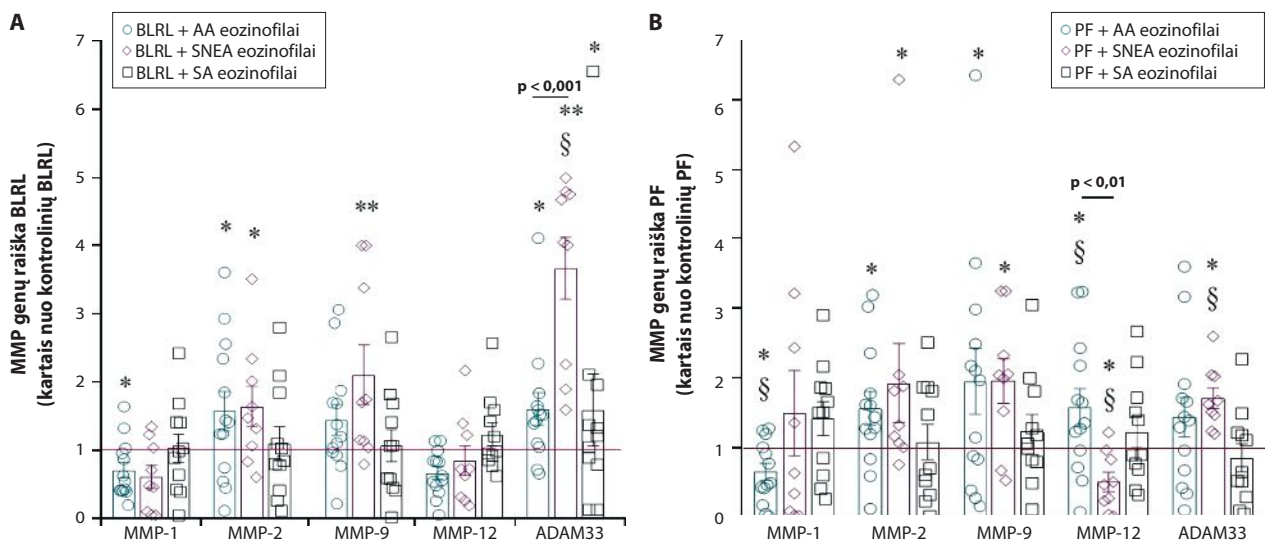
MAPK1, MAPK3, ROCK1, ROCK2, Smurf 1, Smurf 2 genų raiška BLRL ir RHOA, ROCK1, ROCK2 genų raiška PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su AA eozinofilais, lyginant su SA eozinofilų poveikiu (6 pav. D). SNEA eozinofilai reikšmingai skatina MAPK1, MAPK3, RHOA, ROCK1, ROCK2 genų raiškas abiejose ląstelių kultūrose, kai Smurf 1



**2 pav. A – tarpląstelinio užpildo genų raiška BLRL; B – tarpląstelinio užpildo genų raiška PF**

Duomenys pateikiami kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida, kartais nuo kontrolinių BLRL arba PF. AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelė; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. AA n = 13; SNEA n = 9; SA n = 11.

\*p < 0,05, lyginant su kontrolinėmis BLRL ir PF. \*\*p < 0,01, lyginant su kontrolinėmis BLRL arba PF. \*\*\*p < 0,001, lyginant su kontrolinėmis BLRL arba PF. §p < 0,05, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.



**3 pav. A – MMP genų raiška BLRL; B – MMP genų raiška PF**

Duomenys pateikiami kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida, kartais nuo kontrolinių BLRL arba PF ir kartais nuo alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikio BLRL arba PF. AA – alerginė astma; ADAM33 – disintegrinas ir metaloproteinazė 33 (angl. *A disintegrin and metalloproteinase 33*); BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelė; MMP – užpildo metaloproteinazė; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. AA n = 13; SNEA n = 9; SA n = 11. \*p < 0,05, lyginant su kontrolinėmis BLRL ir PF. \*\*p < 0,01, lyginant su kontrolinėmis BLRL arba PF; §p < 0,05, lyginant su SA eozinofilų poveikiu. \*p < 0,05, lyginant su alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu.

# Disertacijos

ir Smurf 2 genų raiška buvo didesnė tik PF, lyginant su SA eozinofilų poveikiu (6 pav. D).

Alergenu aktyvinti eozinofilai reikšmingai didino TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, Smad 4, ROCK1 genų raišką BLRL ir TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ , LTBP3, Smad 7 genų raišką PF, tačiau reikšmingai sumažino Smad 5 ir Smad 9 genų raiškas PF, lyginant su neaktyvintais eozinofilais.

## Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumas

AA ir SNEA eozinofilai reikšmingai skatino BLRL sukeltą kolageno gelio disko susitraukimą, lyginant su SA eozinofilais,  $p < 0,05$  (7 pav. A). Taip pat, SNEA eozinofilų poveikis BLRL sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui, lyginant su AA eozinofilais,  $p < 0,0001$ . PF sukeltas kolageno gelio disko susitraukimas buvo reikšmingai skatinamas AA ir SNEA eozinofilų, lyginant su SA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,001$  (7 pav. B). AA ir SNEA serumo poveikis BLRL sukeltam kolageno gelio susitraukimui buvo reikšmingai mažesnis nei eozinofilų poveikis,  $p < 0,05$ . Sudėtinis AA ir SNEA eozinofilų ir tiriamųjų serumo poveikis buvo reikšmingai didesnis nei vien serumo poveikis,  $p < 0,05$ .

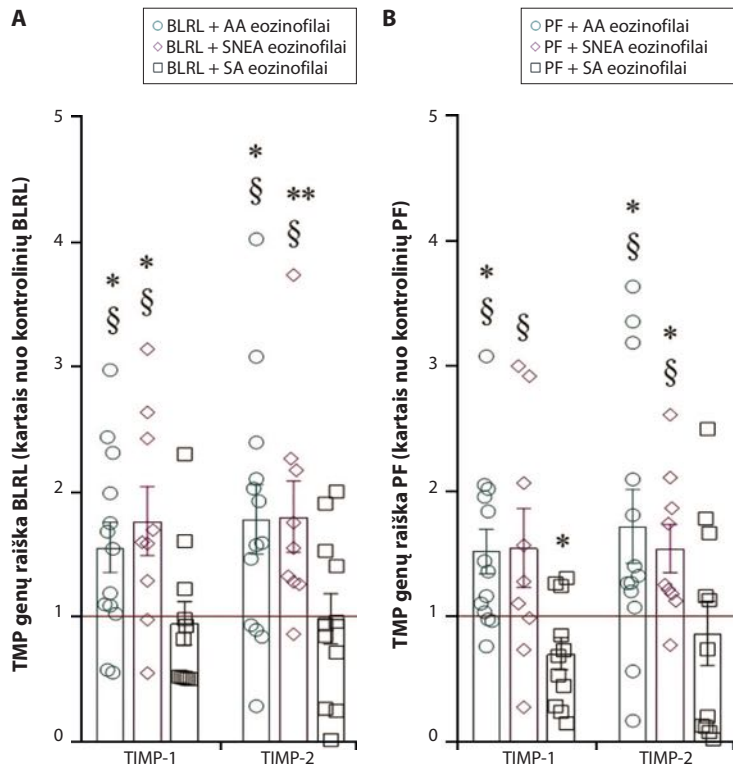
Sudėtinis AA ir SA eozinofilų ir tiriamųjų serumo poveikis PF sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui buvo reikšmingai didesnis nei vien eozinofilų arba tiriamųjų serumo poveikis,  $p < 0,05$ .

Tarp SNEA tiriamųjų serumo ir sudėtinio SNEA eozinofilų B ir tiriamųjų serumo poveikio reikšmingų skirtumų PF sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui nenustatyta.

Alergenu aktyvinti AA eozinofilai reikšmingai didina BLRL sukeltą kolageno gelio disko susitraukimą, lyginant su alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ , kuomet PF sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui, lyginant su alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu, neturėjo.

## Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų diferenciacija į sintetinį-proliferacinį ir kontraktilinį fenotipus

Kontraktilinių žymenų genų raiška ( $\alpha$ -sm-aktino, sm-MHC, SM22, sm-MLCK BLRL ir  $\alpha$ -sm-aktino PF) ir pagrindinių skaidulinių tarpląstelinio užpildo baltymų (kolageno I ir fibronektino) BLRL ir PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su AA ir SNEA eozinofilais, lyginant su SA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ . Kolageno V geno raiška BLRL ir PF po inkubacijos su AA, SNEA ir SA tiriamųjų eozinofilais



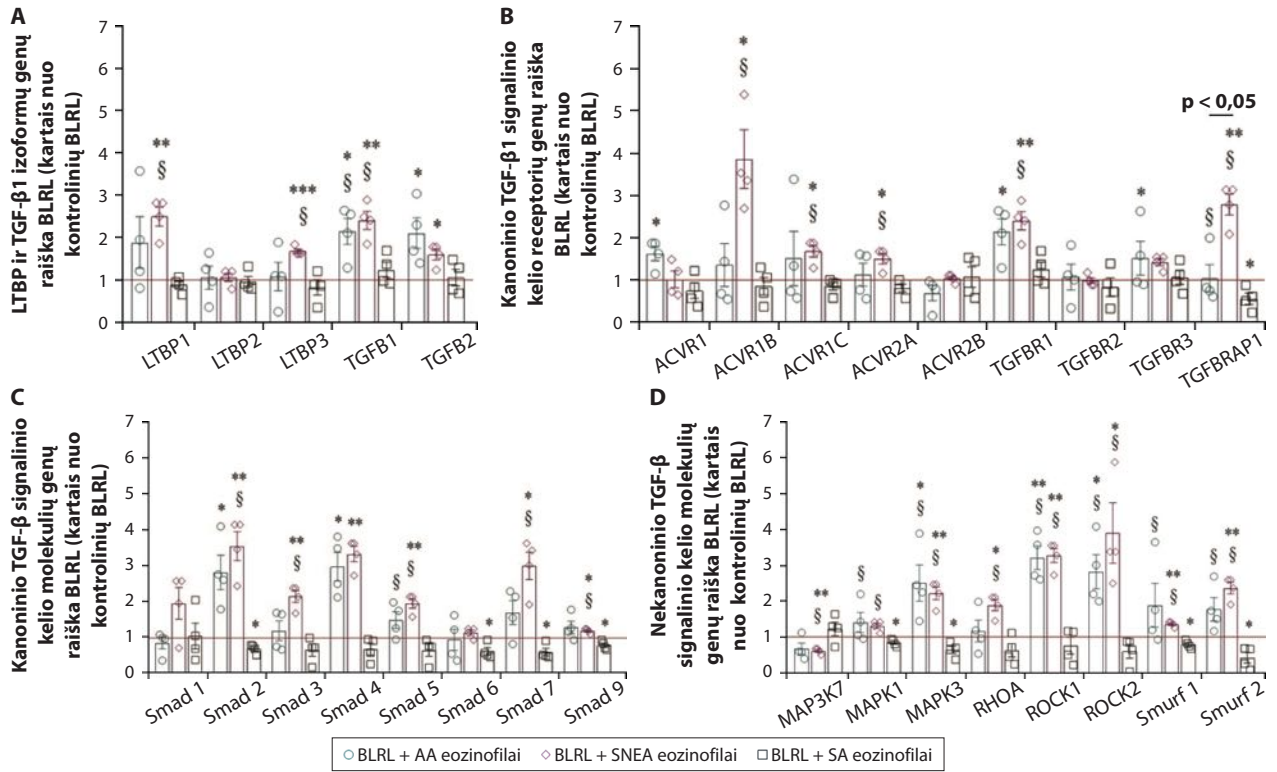
4 pav. A – TIMP genų raiška BLRL; B – TIMP genų raiška PF

Duomenys pateikiami kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida, kartais nuo kontrolinių BLRL arba PF ir kartais nuo alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikio BLRL arba PF. AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelė; MMP – užpildo metaloproteinazė; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma; TIMP – metaloproteinazių audinių inhibitoriai (angl. *Tissue inhibitor of metalloproteinases*). AA n = 13; SNEA n = 9; HS n = 11.

\* $p < 0,05$ , lyginant su kontrolinėmis BLRL ir PF. \*\* $p < 0,01$ , lyginant su kontrolinėmis BLRL arba PF. § $p < 0,05$ , lyginant su SA eozinofilų poveikiu. # $p < 0,05$ , lyginant su alergenu neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu.

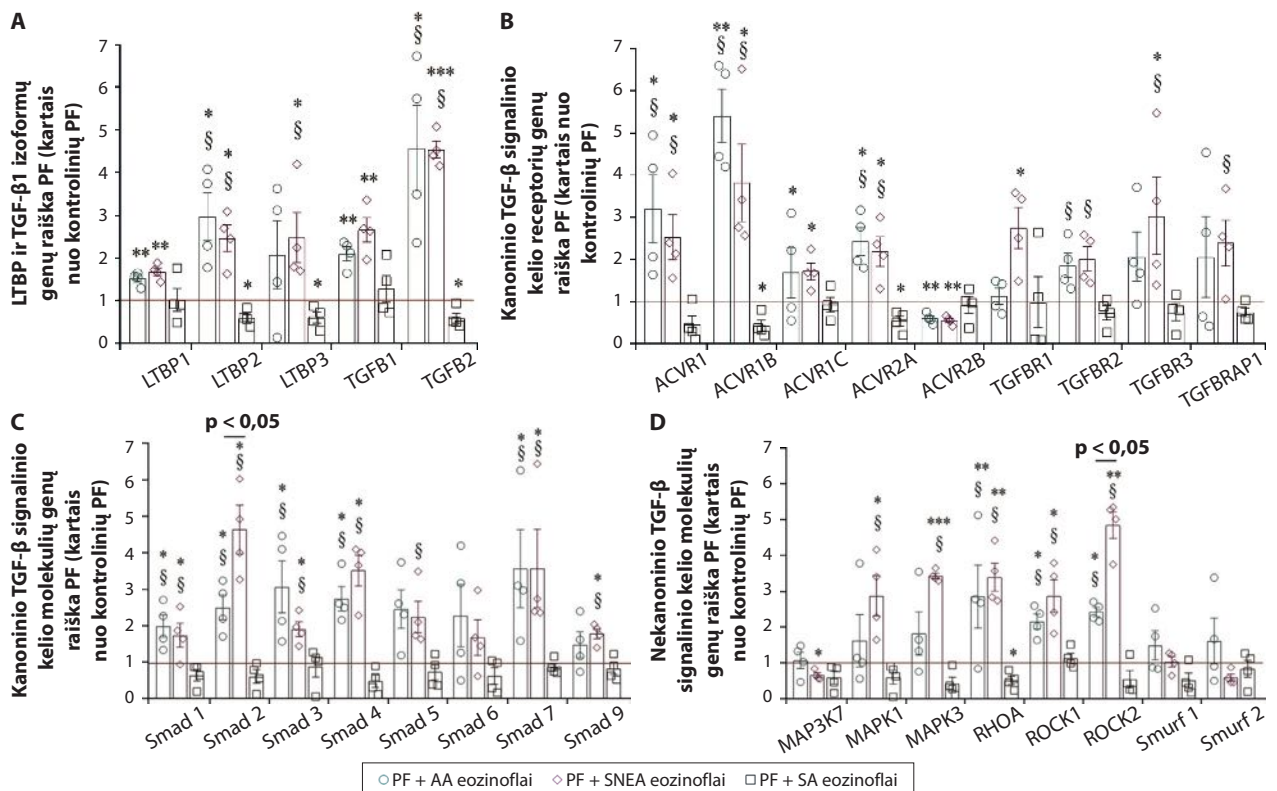
tarp grupių nesiskyrė. SNEA eozinofilai reikšmingai skatino  $\alpha$ -sm-aktino, sm-MHC, SM22 genų raišką BLRL, lyginant su AA eozinofilais,  $p < 0,05$ ; kai skirtumų tarp AA ir SNEA eozinofilų poveikio kolageno I, fibronektino ir sm-MLCK genų raiškoms nebuvo nustatyta (10 pav. A). Kolageno I ir  $\alpha$ -sm-aktino genų raiška PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su SNEA eozinofilais, lyginant su AA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ ; kai reikšmingų skirtumų fibronektino genų raiškai PF tarp AA ir SNEA grupių nenustatyta (8 pav. B).

Alergenu aktyvinti AA eozinofilai visų prieš tai įvardytų genų raišką, išskyrus kolageno V, reikšmingai padidino BLRL ir PF, lyginant su neaktyvintų AA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ . Kolageno I, fibronektino,  $\alpha$ -sm-aktino, sm-MHC, SM22 ir sm-MLCK genų raiška BLRL buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su alergenu aktyvintais AA eozinofilais, lyginant su SA eozinofilais,  $p < 0,05$ . Kolageno I, fibronektino,  $\alpha$ -sm-aktino genų raiška PF buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su alergenu aktyvintais AA eozinofilais, lyginant su SA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ .



**5 pav. TGF-β signalinio kelio molekulių genų raiška BLRL**

AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelės; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. AA, n = 4, SNEA, n = 4, HS, n = 4. Duomenys pateikiami kaip vidurkis ± standartinė paklaida, kartais nuo kontrolinių BLRL. \*p < 0,05, lyginant su kontrolinėmis BLRL. \*\*p < 0,01, lyginant su kontrolinėmis BLRL. \*\*\*p < 0,001, lyginant su kontrolinėmis BLRL. §p < 0,05, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.



**6 pav. TGF-β signalinio kelio molekulių genų raiška PF**

AA – alerginė astma; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. AA, n = 4, SNEA, n = 4, HS, n = 4. Duomenys pateikiami kaip vidurkis ± standartinė paklaida, kartais nuo kontrolinių PF. \*p < 0,05, lyginant su kontrolinėmis PF; \*\*p < 0,01, lyginant su kontrolinėmis PF; \*\*\*p < 0,001, lyginant su kontrolinėmis PF; §p < 0,05, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.

## Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų migracija

AA ir SNEA eozinofilai reikšmingai skatina BLRL migraciją, lyginant su SA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,0001$  (9 pav.). Taip pat, SNEA eozinofilai reikšmingai skatina BLRL migraciją, lyginant su AA eozinofilų poveikiu,  $p < 0,05$ . AA ir SNEA tiriamųjų grupių serumas statistiškai reikšmingai mažiau skatino BLRL migraciją nei šių grupių eozinofilai,  $p < 0,05$ . Taip pat, sudėtinis AA ir SNEA tiriamųjų grupių eozinofilų ir serumo poveikis BLRL migracijai buvo reikšmingai didesnis nei vien eozinofilų poveikis,  $p < 0,05$ .

PF migracija buvo reikšmingai didesnė po inkubacijos su AA ir SNEA eozinofilais, lyginant su AA ir SNEA tiriamųjų serumo poveikiu,  $p < 0,05$ . Taip pat, PF migracija buvo reikšmingai intensyvesnė po inkubacijos su AA ir SNEA grupių eozinofilais ir serumu, lyginant su tik serumo poveikiu,  $p < 0,05$ .

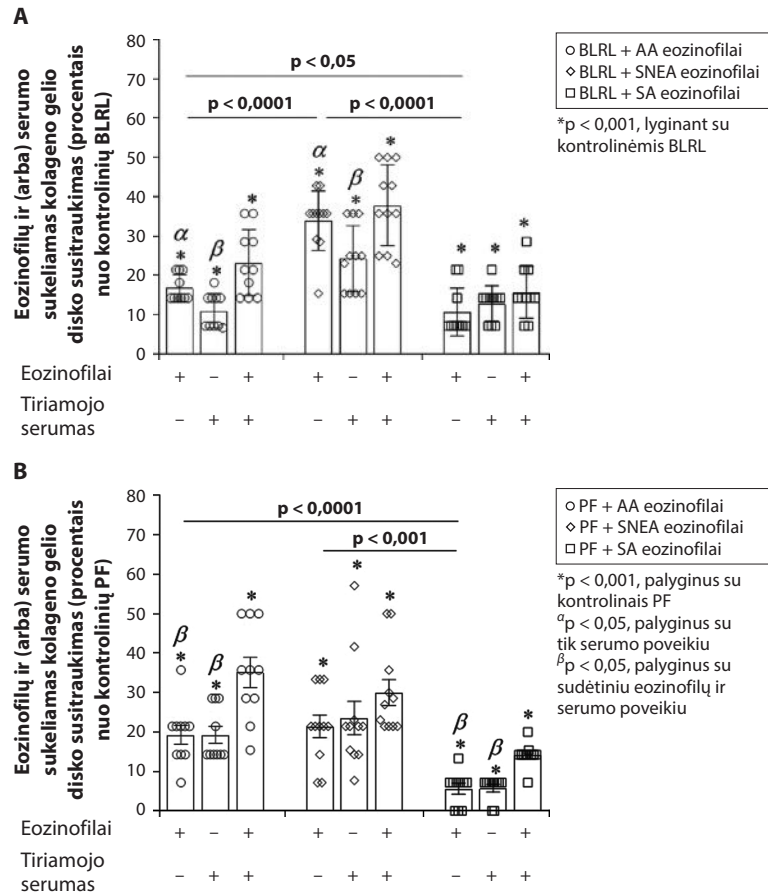
Sudėtinis AA eozinofilų ir serumo poveikis PF migracijai buvo reikšmingai didesnis nei tik AA eozinofilų poveikis,  $p < 0,05$ .

BLRL ir PF migracija buvo reikšmingai intensyvesnė po inkubacijos su alergenu aktyvintais AA eozinofilais, palyginus su neaktyvintais,  $p < 0,05$ . AA serumas po provokacijos alergenu turėjo reikšmingai didesnę poveikį BLRL migracijai nei prieš provokaciją alergenu,  $p < 0,05$ . AA sergančių asmenų eozinofilų ir sudėtinis poveikis po provokacijos buvo reikšmingai didesnis nei serumo; sudėtinis eozinofilų ir serumo poveikis buvo reikšmingai didesnis BLRL migracijai nei vien serumo poveikis,  $p < 0,05$ . Sudėtinis eozinofilų ir serumo poveikis BLRL ir PF migracijai buvo labiau išreikštas po provokacijos alergenu, lyginant su duomenimis prieš provokaciją,  $p < 0,01$ .

## REZULTATŲ APTARIMAS

### Tarpląstelinio užpildo baltymų genų raiška bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose

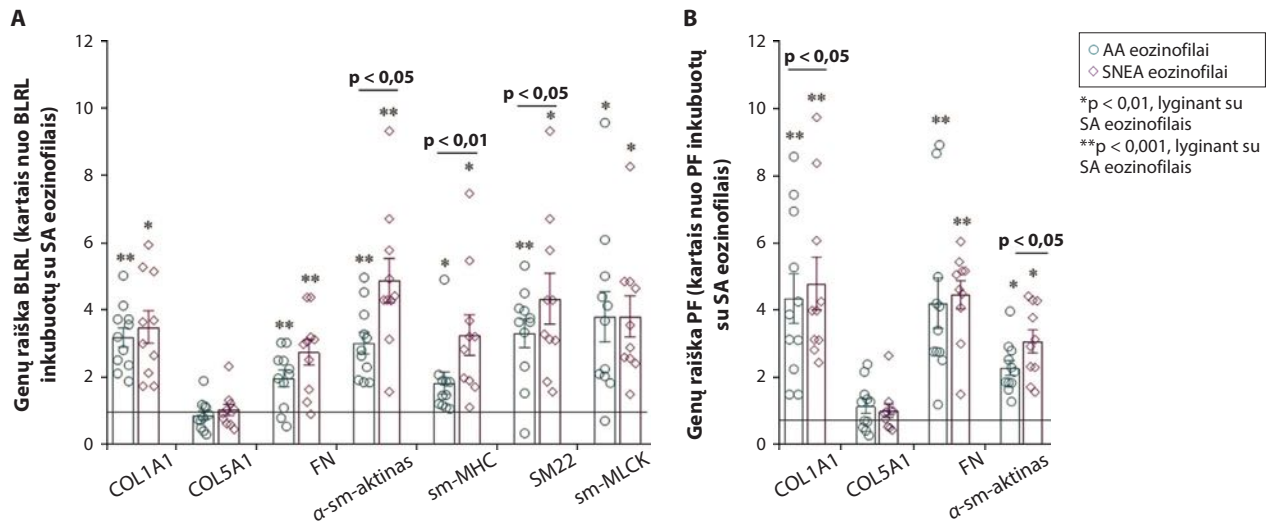
Tarpląstelinio užpildo apykaita yra nuolatinė tarpląstelinio užpildo baltymų sintezė ir ardymas. Mūsų tyrimo duomenimis, astma sergančių asmenų eozinofilai skatina tarpląstelinio užpildo baltymų, tokių kaip kolagenas I, fibronektinas, versikanas, elastinas, tenaskinas C, dekorinas, periostinas ir vimentinas, genų raišką BLRL ir PF. Kitų autorių duomenys neprieštarauja mūsų tyrimo gautiems duomenims: žmogaus astmos



**7 pav. A – Tiriamųjų eozinofilų ir (arba) serumo poveikis BLRL sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui; B – Tiriamųjų eozinofilų ir (arba) serumo poveikis PF sukeltam kolageno gelio disko susitraukimui**

Duomenys pateikti kaip procentai nuo kontrolinių BLRL ir PF ląstelių, kurios nebuvo inkubuojamos su eozinofilais ir (arba) serumu, kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida. Į individualias sudėtines ląstelių kultūras pilamas kiekvieno tiriamąjo serumas, 2 proc. v/v. AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelės; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma.  $\alpha$   $p < 0,05$ , palyginus su tik serumo poveikiu;  $\beta$   $p < 0,05$ , palyginus su sudėtinu eozinofilų ir serumo poveikiu. A – \* $p < 0,001$ , palyginus su kontrolinėmis BLRL. B – \* $p < 0,01$ , palyginus su kontroliniais PF. AA n = 12; SNEA n = 11; SA n = 10.

tyrimų metu (*in vivo*, *ex vivo*), gyvūnų modeliuose ir ląstelių kultūrų tyrimuose nustatytas kolageno I [39, 40], fibronektino [40–42], versikano [43, 44], elastino [45], tenaskino C, periostino [46–54] ir vimentino [55] genų ir (arba) baltymų raiškos padidėjimas BLRL ir PF. Taip pat, mūsų tyrimo metu nustatytas tarpląstelinio užpildo baltymus degraduojamųjų fermentų – užpildo metaloproteinazių – MMP-2, MMP-9, ADAM33 genų raiškos padidėjimas BLRL ir PF po inkubacijos astma sergančių asmenų eozinofilais. Panašūs rezultatai nustatyti ir kitų autorių tyrimų metu – MMP-2 ir MMP-9 kiekiai buvo didesni astma sergančių asmenų kvėpavimo takuose nei sveikų asmenų [45, 56]. Taip pat, kito tyrimo metu parodyta, kad sergant astma MMP-2 perdėta raiška veikia kaip apsauginis mechanizmas, kurio metu MMP-2 skatina makrofagų diferenciaciją į M1 fenotipą, mažina kvėpavimo takų įsijautrinimą,



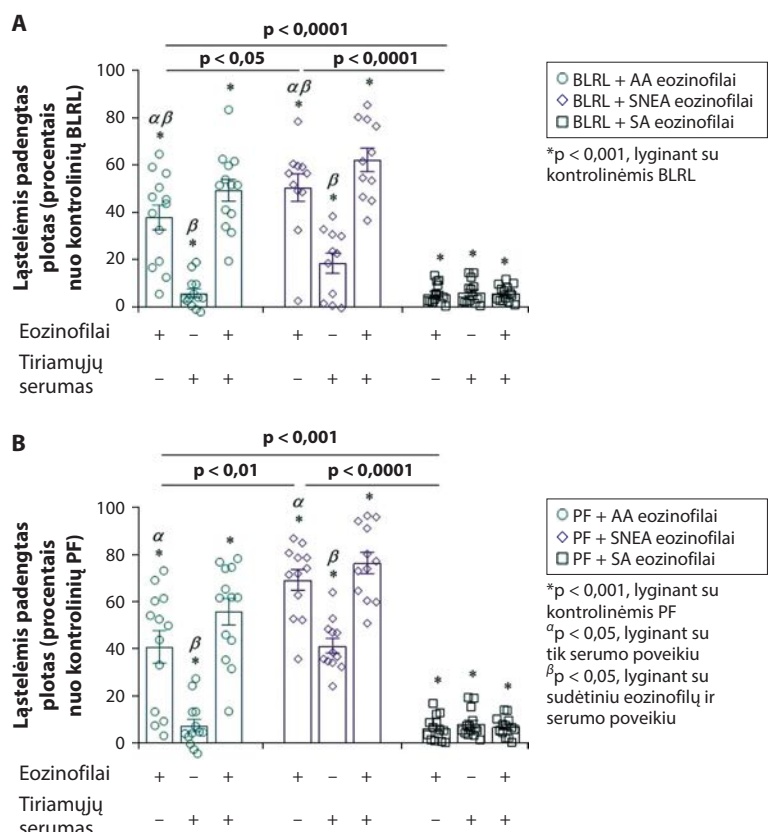
**8 pav. BLRL (A) ir PF (B) diferenciacijos žymenų genų raiška**

Duomenys pateikti kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida kartais nuo SA eozinofilų poveikio. AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelės; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. AA n = 12; SNEA n = 11; SA n = 10. \*p < 0,01, lyginant su SA eozinofilų poveikiu. \*\*p < 0,001, lyginant su SA eozinofilų poveikiu.

2 tipo uždegimo citokinų ir IgE sintezę [56, 57]. MMP, valdančių inhibitorių raišką, tokių kaip TIMP-1 ir TIMP-2 raišką, mūsų tyrime buvo padidėjusi BLRL ir PF po inkubacijos su astma sergančių asmenų eozinofilais. Dėl TIMP-1 ir TIMP-2 padidėjusios raiškos MMP aktyvumas yra blokuojamas, todėl didėja nesuirusių ir kvėpavimo takų sienelėje susikaupusių tarpląstelinio užpildo baltymų kiekis [58]. Taigi, eozinofilai skatina tarpląstelinio užpildo baltymų ir MMP ir TIMP genų raišką BLRL ir PF, prisidedami prie kvėpavimo takų remodeliavimosi procesų.

### TGF- $\beta$ signalinis kelias ir jo reikšmė bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms ir plaučių fibroblastams

TGF- $\beta$  yra pleotropinis citokinas, kuris dalyvauja daugelyje ląstelei svarbių gyvavimo etapų, įskaitant proliferaciją, diferenciaciją į aktyvesnius ląstelių fenotipus, išgyvenamumą ir apoptozę. Uždegiminės ir kvėpavimo takų struktūrinės ląstelės ne tik reaguoja į pasikeitusį TGF- $\beta$  kiekį aplinkoje per gausų TGF- $\beta$  receptorių tinklą, tačiau ir pačios sintetina ir išskiria šį citokiną. TGF- $\beta$  poveikis gali būti skiriamas į du skirtingus mechanizmus, veikiančius antagonistiskai: viena vertus, TGF- $\beta$  gali būti prouždegiminis, kita vertus – antiuždegiminis mediatorius [32]. TGF- $\beta$  skatina poepitelinę fibrozę,



**9 pav. A – Tiriamųjų eozinofilų ir (arba) serumo poveikis BLRL migracijai; B – Tiriamųjų eozinofilų ir (arba) serumo poveikis PF migracijai**

Duomenys pateikti kaip ląstelėmis padengtas plotas, procentai nuo kontrolinių BLRL ir PF ląstelių, kurios nebuvo inkubuojamos su eozinofilais ir (arba) serumu, kaip vidurkis  $\pm$  standartinė paklaida. Į individualias sudėtines ląstelių kultūras piltas kiekvieno tiriamojo serumas, 2 proc. v./v. AA – alerginė astma; BLRL – bronchų lygiųjų raumenų ląstelės; PF – plaučių fibroblastai; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma.  $\alpha$ p < 0,05, palyginus su tik serumo poveikiu;  $\beta$ p < 0,05, palyginus su sudėtinu eozinofilų ir serumo poveikiu. A – \*p < 0,001, palyginus su kontrolinėmis BLRL. B – \*p < 0,001, palyginus su kontroliniais PF. AA n = 12; SNEA n = 11; SA n = 10.

didindamas tarpląstelinio užpildo baltymų sintezę ir kaupimąsi kvėpavimo takuose [33]. Pagrindinės ląstelės, atsakingos už tarpląstelinio užpildo sintezę sergant astma, yra kvėpavimo takų struktūrinės ląstelės, tokios kaip BLRL ir PF. Šios ląstelės, veikiant TGF- $\beta$ , diferencijuoja į aktyvesnius ląstelių fenotipus, dėl ko BLRL ir PF tampa aktyvesnės – didėja tarpląstelinio užpildo baltymų sintezė, gamyba, ir ląstelės geba intensyviau susitraukti. Šie procesai yra kvėpavimo takų remodeliavimosi sergant astma dalis.

BLRL ir PF gausiai išskiria neaktyvintą TGF- $\beta$  formą, kuri kaupiasi tarpląsteliniam užpilde. Neaktyvinta (latentinė) TGF- $\beta$  forma yra TGF- $\beta$  ir peptido 1 junginys, kai pastarojo pašalinimas laikomas TGF- $\beta$  aktyvinimu. Ši reakcija katalizuojama keletu proteazių, tokių kaip MMP-2 ir MMP-9, plazminas, trombospondinas-1, kalpaninų ir kitų įvairių mediatorių [34, 35].

TGF- $\beta$  signalinis kelias yra skirstomas į kanoninį – nuo Smad molekulių priklausomą – ir nekanoninį – nuo Smad molekulių nepriklausomą – signalinius kelius. Kanoninis signalinis kelias susijęs su intensyvesne tarpląstelinio užpildo baltymų gamyba ir susikaupimu kvėpavimo takų sienelėje, o nekanoninis kelias susijęs su ląstelių kontraktiškumu, migracija ir proliferacija [61]. TGF- $\beta$  šeimai priklauso trys jo izoformos: TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 ir TGF- $\beta$ 3. Tyrimo metu nustatyta, kad TGF- $\beta$ 1 ir TGF- $\beta$ 2 genų raiška padidėjo BLRL ir PF po inkubacijos su astma sergančių asmenų eozinofilais, o TGF- $\beta$ 3 geno raiška analizės metu išvis nebuvo nustatyta. Taigi, TGF- $\beta$  signalinis kelias aktyvinamas, kai TGF- $\beta$  fosforilina receptorius – TGF- $\beta$ R1, TGF- $\beta$ R2 ir TGF- $\beta$ R3. Nustatyta, kad BLRL ir PF astma sergančių asmenų eozinofilai didina TGF- $\beta$ R1 ir TGF- $\beta$ R3 genų raiškas. Buvo parodyta, kad TGF- $\beta$ R1 ir TGF- $\beta$ R2 raiška ant ląstelės išorinės membranos yra didesnė sergant astma [37, 38].

Kanoninis arba Smad signalinis kelias aktyvinamas, kai TGF- $\beta$  receptoriai fosforilinami – fosforilintos Smad 2 ir Smad 3 molekulės prisijungia prie Smad 4, o tai inicijuoja genų taikinių transkripciją ir skatina ląstelių proliferaciją, tarpląstelinio užpildo baltymų raišką, ląstelių išgyvenamumą, uždegiminius procesus [69]. Šiame tyrime eozinofilai skatina abiejų – kanoninio ir nekanoninio – TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raišką. Wnuk ir kt. atliktame tyrime nustatyta, kad Smad 2 ir Smad 3 raiška ir aktyvumas buvo didesni astma sergančių asmenų pirminiuose bronchų fibroblastuose nei ne astmos pacientų [40]. Mūsų tyrimo duomenys atitinka anksčiau minėto tyrimo rezultatus – Smad 2 ir Smad 3 genų raiška PF buvo didesnė po inkubacijos su astma sergančių asmenų eozinofilais nei SA eozinofilais. Tačiau šiame tyrime nustatytas ir antifibrozinis Smad 1 ir Smad 5 genų raiškos padidėjimas PF, kai Wnuk ir kt. nustatė Smad 1 ir Smad 5 genų raiškos sumažėjimą, kurį galėjo lemti gydymo

taikymas astma sergantiems asmenims. Schwartze ir kt. duomenimis, gliukokortikosteroidai aktyvino receptorius, Smad 1, Smad 5 ir Smad 9 raišką, ir mažino TGFBR1, Smad 2, Smad 3 aktyvumą [41]. Kito tyrimo duomenimis, gydymas TGF- $\beta$ 1-neutralizuojamaisiais antikūnais mažina TGF- $\beta$ 1 raišką ir Smad 2 ir Smad 3 signalinio kelio aktyvumą pelių nosies ir plaučių audiniuose [42]. Taigi, reikėtų apsvarstyti visus galimus gydymo būdus, susijusius su eozinofilais ir TGF- $\beta$  signaliniu keliu kvėpavimo takų struktūrinėse ląstelėse.

SNEA eozinofilų reikšmė TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raiškai BLRL ir PF buvo didžiausia iš visų tiriamųjų grupių ir tai gali būti pagrįsta eozinofilų aktyvumo skirtumais. SNEA eozinofilai buvo aktyvesni, lyginant su AA eozinofilais, todėl jie išskyrė daugiau įvairių uždegiminių citokinų ir buvo jautresni aplinkos pokyčiams dėl padidėjusios receptorių raiškos ant išorinės membranos [43]. Taigi, eozinofilai turi neabejotiną reikšmę BLRL ir PF aktyvinimui ir TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raiškai. Eozinofilų, BLRL ir PF išskiriamas TGF- $\beta$  reikšmingai prisideda prie sergant astma vykstančių kvėpavimo takų remodeliavimosi mechanizmų.

## **Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumas ir migracija**

Ankstesniuose tyrimuose įrodyta, kad astma sergančių asmenų eozinofilų adhezija prie kvėpavimo takų struktūrinių ląstelių buvo padidėjusi [19]. Į kvėpavimo takus migravę ir adhezavę eozinofilai degranuliuoja ir išskiria įvairius augimo veiksnius, kurie keičia BLRL, PF ir epitelinių ląstelių elgseną – sukliamas kvėpavimo takų remodeliavimasis [44]. Kvėpavimo takų remodeliavimasis apibūdinamas kaip struktūrinis ląstelių sudėties persitvarkymas, sutrikusi normali ląstelių funkcija ir sutrikusi tarpląstelinio užpildo baltymų gamyba. Vienas iš kvėpavimo takų remodeliavimosi požymių yra padidėjęs kvėpavimo takų struktūrinių ląstelių kontraktiškumas ir diferenciacija į ląstelių kontraktilinį fenotipą. Padidėjęs BLRL ir PF kontraktiškumas ir migracija reikšmingai prisideda prie astmos simptomų pasireiškimo, tačiau apie eozinofilų reikšmę šiems procesams informacijos vis dar trūksta.

Pirminė BLRL funkcija yra reguliuoti kvėpavimo takų tonusą per susitraukimo ir atsipalaidavimo pusiausvyrą, reaguojant į vietinius arba cirkuliuojamuosius veiksnius [45]. BLRL yra vienos pagrindinių reguliacinių ląstelių sergant astma, kurios ne tik gamina tarpląstelinio užpildo baltymus, prouždegiminius ir antiuždegiminius veiksnius, tačiau ir reguliuoja kitų struktūrinių ląstelių proliferaciją, migraciją ir apoptozę [45]. Kitų autorių tyrimai parodė, kad astma sergančiųjų BLRL sugeneravo didesnę susitraukimo jėgą ir atsipalaidavimą nei sveikų asmenų BLRL [46]. Mūsų tyrime astma sergančiųjų eozinofilai skatino BLRL

sukeliamo kolageno gelio susitraukimą. Didžiausią poveikį susitraukimui turėjo SNEA eozinofilai. Šiuos rezultatus galima paaiškinti eozinofilų aktyvumo skirtumais įvairiose astmos grupėse.

Lygiųjų raumenų ląstelėse yra aktino ir miozino gijų tinklas [47]. Susitraukimą inicijuoja  $Ca^{2+}$  kalmodulino sąveika, kuri skatina miozino lengvosios grandinės fosforilinimą. Šis procesas priklauso nuo RhoA/Rho signalinio kelio aktyvumo. Sergant astma, šis procesas sutrinka ir BLRL susitraukimas yra spazminis, ilgesnis nei įpastai, dėl ko susiaurėja bronchai [48]. Tai gali būti paaiškinta kvėpavimo takų eozinofilija ir eozinofilų išskiriamais prouždegiminiais mediatoriais, tokiais kaip TGF- $\beta$ , kuris jungiasi prie BLRL išorinio membranos paviršiaus esančių TGF- $\beta$  receptorių ir aktyvina TGF- $\beta$  signalinį kelią, taip pat aktyvindamas ir RhoA signalinio kelio aktyvumą. Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad RhoA genų raišką didina astma sergančiųjų eozinofilai, dėl ko galėjo didėti ir BLRL kontraktiškumas. Šie pokyčiai ryškiausi po inkubacijos su SNEA eozinofilais.

Fibroblastų susitraukimas yra susijęs su diferenciacija į produktyvesnį ir labiau susitraukiantį fenotipą, žinomą kaip miofibroblastai. Miofibroblastai yra mezenchiminės ląstelės, kurios dažnai apibūdinamos kaip fibroblastų ir lygiųjų raumenų ląstelių hibridas dėl padidėjusios  $\alpha$ -sm-aktino raiškos, kuri matoma ląstelių streso skaidulose [49]. Miofibroblastų kontraktiškumo mechanizmas sudarytas iš aktiną turinčių skaidulų, kurios prisijungusios prie ląstelės sienelėje susidarantių židinių adhezijos centrų [49]. Aktino streso skaidulos, aktyvuojamos tirpių mediatorių, susiekia su tarpląstelinio užpildo baltymais per židinius adhezijos centrus [14]. Šiame tyrime nustatyta, kad PF sukliamas kolageno gelio susitraukimas skatinamas eozinofilų, ypač astma sergančių asmenų. Šiuo atveju eozinofilai yra streso veiksnys, kuris sukelia PF diferenciaciją į miofibroblastus ir susitraukimą.

Padidėjusi fibronektino raiška gali paaiškinti, kodėl SNEA ir AA eozinofilų poveikis PF kontraktiškumui neturi esminių skirtumų – nustatyta, kad fibronektino raiška PF po inkubacijos su SNEA ir PF eozinofilais buvo panaši. Viduląstelinis fibronektinas,  $\alpha$ -sm-aktinas ir integrinai yra būtini komponentai fibroblastų susitraukimui [50]. Be to, SNEA eozinofilų poveikis PF susitraukimui gali nesiskirti nuo AA eozinofilų poveikio dėl didelės inhaliuojamųjų steroidų dozės, nes jie slopina kraujo eozinofilų aktyvinimą ir adheziją [51]. T. Zhang ir kt. taikė dinaminę mikroskalės platformą fibroblastų susitraukimui analizuoti, pasitelkė kolageno I gelį ir nustatė, kad eozinofilai skatina PF susitraukimą [52]. T. Zhang ir kt. eksperimentuose naudojama žmogaus mieloidinių leukeminių eozinofilų ląstelių linija, kuri negali atspindėti astma sergančių asmenų kraujo eozinofilų savybių ir poveikio kvėpavimo takų struktūrinėms ląstelėms. Taigi, eozinofilai skatina

BLRL ir PF susitraukimą, taip prisidedami prie astmos metu vykstančių kvėpavimo takų remodeliavimosi procesų.

Vienas iš astmos simptomų pasireiškimui svarbių remodeliavimosi požymių yra kvėpavimo takų sienelės sustorėjimas, kuris yra susijęs su raumeninės masės didėjimu [53]. Ląstelių kontraktiškumas ir migracija yra vienas kitam artimi procesai. Migracija yra sudėtinga ląstelės susitraukimo ir atsipalaidavimo procesų visuma, kuri aktyvinama įvairiais signaliniais keliais ir valdoma reakcijų grandinėmis, kurių metu aktyvinami kontraktiniai baltymai [12]. Manoma, kad BLRL migracija prisideda prie astmai būdingos BLR hiperplazijos [12]. Šio tyrimo metu nustatyta, kad BLRL migraciją skatina astma sergančių asmenų eozinofilai, ypač SNEA eozinofilai. Tai galima paaiškinti eozinofilų aktyvumo skirtumais – astma sergančiųjų eozinofilai yra aktyvesni nei SA, todėl jie išskiria didesnius kiekius įvairių citokinų, kurie aktyvina BLRL. Tarpląstelinio užpildo ir ląstelių tarpusavio sąveika palaiko fiziologines ląstelių funkcijas ir yra svarbi tokiems patologiniams procesams kaip žaizdų gijimas, audinių fibrozė, rando formavimasis [54]. Sergant astma šie procesai taip pat susiję su intensyvesne PF migracija [55].

Eozinofilų išskiriamas katijoninis baltymas ir TGF- $\beta$  stimuliuoja PF migraciją, kuri sąlygoja kvėpavimo takų pamatinės membranos sustorėjimą [56]. Tyrime astma sergančių asmenų eozinofilai, ypač SNEA eozinofilai, skatino PF migraciją, kuri taip pat galėjo priklausyti nuo aktyvesnių astma sergančiųjų eozinofilų ir padidėjusio uždegiminių mediatorių kiekio. Astma sergančių asmenų kvėpavimo takų biopsijų tyrimai atskleidė skirtingą eozinofilų aktyvumą ir degranuliacines savybes, lyginant asmenis, sergančius AA, alerginiu rinitu, nosies polipoze ir kitomis kvėpavimo takų ligomis [98].

Intensyvesnė BLRL ir PF migracija reikšmingai prisidėjo prie bronchų sienelės sustorėjimo, kuri yra vienas iš kvėpavimo takų remodeliavimosi požymių sergant astma.

## **Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų diferenciacija į sintetinamąjį-proliferacinį ir kontraktilinį fenotipus**

Kvėpavimo takų spindžio siaurėjimas yra susijęs su BLRL geba susitraukti dėl didesnio ir lengvesnio akino ir miozino molekulių sukibimo, BLRL hipertrofijos, hiperplazijos, kvėpavimo takų sienelės edemos ir tarpląstelinio užpildo baltymų kaupimosi [57]. Tyrimai parodė, kad BLRL sluoksnio masės padidėjimas koreliuoja su astmos sunkumu ir kvėpavimo takų jautrumu metacholinui [53].

Eozinofilai gali prikibti prie struktūrinių kvėpavimo takų ląstelių, tokių kaip BLRL ir PF, ir išskirti



# Disertacijos

šių ląstelių migraciją skatinančias molekules [58, 59]. BLRL gali būti skiriami į du pagrindinius patologinius fenotipus, siejamus su to proceso didesniu intensyvumu: proliferacinius-sekrecinius BLRL ir kontraktilinius BLRL [46]. Įrodyta, kad padidėjusi BLRL proliferacija ir intensyvesnė tarpląstelinio užpildo gamyba būna kartu, todėl laikoma, kad tai vienas BLRL fenotipas [61]. Mūsų tyrimas parodė, kad tiek kontraktiliniam, tiek sintetinamajam-proliferaciniam BLRL fenotipui būdingų genų raiška buvo intensyvesnė po inkubacijos su AA ir SNEA eozinofilais, vadinasi, BLRL buvo aktyvintos ir diferencijavo į aktyvesnius BLRL fenotipus. Kas sukelia BLRL diferenciaciją iki šiol lieka diskusijų objektu, tačiau sutariama, kad šis procesas prisideda prie astmos patogenezės [80, 108, 109]. Taip pat, nežinoma, kokių santykiu pasiskirsto sintetinamasis-proliferacinis ir kontraktilinis fenotipai ir ar jie išvis gali atsirasti *in vivo* [62, 63]. Nustatyta, kad astma sergančių asmenų BLRL reakcija skyrėsi nuo nesergančių astma BLRL: BLRL iš astma sergančių asmenų buvo hiperkontraktilinės, hipersintetinės ir hiperproliferacinės tuo pačiu metu [64]. Fenotipų virsmo teorija supriešina kontraktilinę ir proliferacinę BLRL gebą, todėl teigiama, kad BLRL populiacija yra heterogeniška ir abu fenotipai gali egzistuoti vienu metu [46, 60].

PF yra itin kompleksinės ląstelės, kurios sukuria kitoms, funkcinėms, ląstelėms atramą per tarpląstelinio užpildo baltymų gamybą, nustatančią plaučių ląstelių funkcinius savitumus. Sergant astma, fibroblastų aktyvumas pasikeičia dėl aplinkos poveikio, todėl kinta kokybinė ir kiekybinė tarpląstelinio užpildo sudėtis [65]. Sergant astma, PF svarbūs pažeidimų atsikūrimo ir gijimo procesams, normalios plaučių struktūros ir architektūros ir funkcijos netekimui, kuriuos lemia audinių fibrozė ir sutrikusi kvėpavimo takų audinių homeostazė. PF diferenciacijai į miofibroblastus svarbiausia TGF- $\beta$ , kurio raiška plaučių audiniuose sergant astma yra itin padidėjusi [66, 67]. Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad astma sergančių asmenų eozinofilai yra atsakingi už padidėjusią  $\alpha$ -sm-aktino, kolageno I ir fibronektino genų raišką, todėl galima teigti, kad astma sergančių asmenų eozinofilai sukelia fibroblastų diferenciaciją į miofibroblastus. Be to, kolagenas I ir fibronektinas yra būtini miofibroblastų migracijai [68]. Taigi, didesnis PF kontraktiškumas ir migracija gali būti siejami su eozinofilų sukeliama didesne kolageno I ir fibronektino genų raiška ir diferenciacija į miofibroblastus.

## APIBENDRINIMAS

Padidėjęs kvėpavimo takų eozinofilų aktyvumas ir išgyvenamumas yra viena iš pagrindinių kvėpavimo takų remodeliavimosi priežasčių sergant eozinofiline astma. TGF- $\beta$  yra pagrindinis kvėpavimo takų struktūrinių ląstelių funkcijos ir tarpląstelinio užpildo

baltymų, įskaitant kolageną ir fibronektiną, sintezės reguliatorius. Astma sergančių asmenų eozinofilai taip pat dažniau keitė tarpląstelinio užpildo baltymų genų raišką nei jų apykaitą reguliuojamųjų MMP ir TIMP genų raišką BLRL ir PF. Taip pat, astma sergančių asmenų eozinofilai skatino kanoninio ir nekanoninio TGF- $\beta$  signalinio kelio molekulių genų raišką. Be to, astma sergančių asmenų eozinofilai skatino BLRL ir PF kontraktiškumą ir migraciją, taip prisideddami prie kvėpavimo takų remodeliavimosi.

## IŠVADOS

Alerginė astma ir sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilai skatina tarpląstelinio užpildo, užpildo metaloproteinazių ir audinių metaloproteinazių inhibitorių genų raišką bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose. Eozinofilų aktyvinimas alergenu *in vivo* didina pagrindinių tarpląstelinio užpildo baltymų, MMP ir TIMP genų raišką struktūrinėse kvėpavimo takų ląstelėse.

Alerginė astma sergančių asmenų eozinofilai skatina TGF- $\beta$  geno raišką bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir plaučių fibroblastuose. TGF- $\beta$  signalinio kelio receptorių genų raišką skatina sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilai bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir alergine astma ir sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilai plaučių fibroblastuose. Alerginė astma sergančių asmenų eozinofilai labiau skatina nekanoninio signalinio kelio molekulių genų raišką bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse ir kanoninio signalinio kelio molekulių genų raišką plaučių fibroblastuose, o sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilai skatina tiek kanoninio, tiek nekanoninio kelių molekulių genų raišką abiejose ląstelių linijose.

Alerginė astma ir sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilai skatina bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumą, migraciją ir diferenciaciją. Sunkia nealergine eozinofiline astma sergančių asmenų eozinofilų poveikis bronchų lygiųjų raumenų ląstelių kontraktiškumui, abiejų ląstelių kultūrų migracijai ir diferenciacijai buvo didesnis nei alergine astma sergančių asmenų eozinofilų poveikis. *In vivo* alergenu aktyvinti alergine astma sergančių asmenų eozinofilai dar labiau padidina bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumą, migraciją ir diferenciacijos žymenų genų raišką abiejose ląstelių linijose.

## PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Padidėjęs eozinofilų aktyvumas susijęs su intensyvesniu kvėpavimo takų remodeliavimosi: sutrikusia tarpląstelinio užpildo baltymų apykaita, padidėjusiu uždegiminio TGF- $\beta$  kiekiu, bronchų lygiųjų raumenų ląstelių ir plaučių fibroblastų kontraktiškumu ir

migravimu. Siekiant pagerinti eozinofilinės astmos gydymo galimybes, turi būti siekiama sumažinti eozinofilų poveikį bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms ir plaučių fibroblastams slopinant eozinofilų brendimą ir aktyvumą, todėl gydant astmą tikslinga slopinti eozinofilų poveikį.

## STRAIPSNIAI, KURIUOSE PASKELBTI DISERTACIJOS REZULTATAI

1. Janulaityte I, Januskevicius A, Rimkunas A, Palacionyte J, Vitkauskiene A, Malakauskas K. Asthmatic Eosinophils Alter the Gene Expression of Extracellular Matrix Proteins in Airway Smooth Muscle Cells and Pulmonary Fibroblasts. *Int J Mol Sci.* 2022;23(8):4086.
2. Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaite-Zukauske V, Palacionyte J, Malakauskas K. Asthmatic Eosinophils Promote Contractility and Migration of Airway Smooth Muscle Cells and Pulmonary Fibroblasts In Vitro. *Cells.* 2021;10(6):1389.
3. Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaite-Zukauske V, Bajoriuniene I, Malakauskas K. In Vivo Allergen-Activated Eosinophils Promote Collagen I and Fibronectin Gene Expression in Airway Smooth Muscle Cells via TGF- $\beta$ 1 Signaling Pathway in Asthma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1837.

## LITERATŪRA

1. Keglłowich LF, Borger P. The three A's in asthma - airway smooth muscle, airway remodeling & angiogenesis. *Open Respir Med J.* 2015; 9:70–80.
2. Bjerregaard A, Laing IA, Backer V, Fally M, Khoo S-K, Childlow G, et al. Clinical characteristics of eosinophilic asthma exacerbations. *Respirology.* 2017; 22(2):295–300.
3. Possa SS, Leick EA, Prado CM, Martins MA, Tibério IFLC. Eosinophilic inflammation in allergic asthma. *Front Pharmacol.* 2013; 4:46.
4. Dekkers BG, Maarsingh H, Meurs H, Gosens R. Airway structural components drive airway smooth muscle remodeling in asthma. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(8):683–69.
5. Sagara H, Okada T, Okumura K, et al. Activation of TGF- $\beta$ 2/Smad2 signaling is associated with airway remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110(2):249–54.
6. Hinz B. The extracellular matrix and transforming growth factor- $\beta$ 1: Tale of a strained relationship. *Matrix Biol.* 2015; 47:54–65.
7. Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol.* 2004; 16(5):558–64.
8. Horiguchi M, Ota M, Rifkin DB. Matrix control of transforming growth factor- $\beta$  function. *J Biochem.* 2012; 152(4):321–9.
9. Massagué J. TGF $\beta$  signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012; 13:616–30.
10. Halwani R, Al-Muhsen S, Al-Jahdali H, Hamid Q. Role of transforming growth factor-beta in airway remodeling in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011; 44(2):127–33.
11. Burgess JK. The role of the extracellular matrix and specific growth factors in the regulation of inflammation and remodeling in asthma. *Pharmacol Ther.* 2009; 122(1):19–29.
12. Salter B, Pray C, Radford K, Martin JG, Nair P. Regulation of human airway smooth muscle cell migration and relevance to asthma. *Respir Res.* 2017; 18(1):156.
13. Baum J, Duffy HS. Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? *J Cardiovasc Pharmacol.* 2011; 57(4):376–9.
14. Hinz B, Dugina V, Ballestrem C, Wehrle-Haller B, Chaponnier C. Alpha-smooth muscle actin is crucial for focal adhesion maturation in myofibroblasts. *Mol Biol Cell.* 2003; 14(6):2508–19.
15. Kendall RT, Feghali-Bostwick CA. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators. *Front Pharmacol.* 2014; 5:123.
16. Janulaityte I, Januskevicius A, Rimkunas A, Palacionyte J, Vitkauskiene A, Malakauskas K. Asthmatic Eosinophils Alter the Gene Expression of Extracellular Matrix Proteins in Airway Smooth Muscle Cells and Pulmonary Fibroblasts. *Int J Mol Sci.* 2022;23(8):4086.
17. Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaite-Zukauske V,

- Palacionyte J, Malakauskas K. Asthmatic Eosinophils Promote Contractility and Migration of Airway Smooth Muscle Cells and Pulmonary Fibroblasts In Vitro. *Cells.* 2021;10(6):1389.
18. Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaite-Zukauske V, Bajoriuniene I, Malakauskas K. In Vivo Allergen-Activated Eosinophils Promote Collagen I and Fibronectin Gene Expression in Airway Smooth Muscle Cells via TGF- $\beta$ 1 Signaling Pathway in Asthma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1837.
19. Januskevicius A, Jurkeviciute E, Janulaityte I, Kalinauskaite-Zukauske V, Miliauskas S, Malakauskas K. Blood Eosinophils Subtypes and Their Survivability in Asthma Patients. *Cells.* 2020;9(5):1248.
20. Mostaço-Guidolin LB, Osei ET, Ullah J, Hajimohammadi S, Fouadi M, Li X, et al. Defective fibrillar collagen organization by fibroblasts contributes to airway remodeling in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019; 200(4):431–43.
21. Reeves SR, Kolstad T, Lien T-Y, Elliott M, Ziegler SF, Wight TN, et al. Asthmatic airway epithelial cells differentially regulate fibroblast expression of extracellular matrix components. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134(3):663–70.
22. Benayoun L, Druilhe A, Dombret M-C, Aubier M, Pretolani M. Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167(10):1360–8.
23. Pini L, Hamid Q, Shannon J, Lemelin L, Olivenstein R, Ernst P, et al. Differences in proteoglycan deposition in the airways of moderate and severe asthmatics. *Eur Respir J.* 2007; 29(1):71–7.
24. de Medeiros Matsushita M, da Silva LFF, dos Santos MA, Fernezlian S, Schrumpf JA, Roughley P, et al. Airway proteoglycans are differentially altered in fatal asthma. *J Pathol.* 2005; 207(1):102–10.
25. Araujo BB, Dolhnikoff M, Silva LFF, Elliot J, Lindeman JHN, Ferreira DS, et al. Extracellular matrix components and regulators in the airway smooth muscle in asthma. *Eur Respir J.* 2008; 32(1):61–9.
26. James A, Janson C, Malinowski A, Holweg C, Alving K, Ono J, et al. Serum periostin relates to type-2 inflammation and lung function in asthma: Data from the large population-based cohort Swedish GA(2)LEN. *Allergy.* 2017; 72(11):1753–60.
27. Bentley JK, Chen Q, Hong JY, Popova AP, Lei J, Moore BB, et al. Periostin is required for maximal airways inflammation and hyperresponsiveness in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134(6):1433–42.
28. Wang R, Li Q, Tang DD. Role of vimentin in smooth muscle force development. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006; 291(3):C483–C9.
29. Fujiwara K, Urata K, Tomaru A, Takahashi Y, Onishi M, Takagi T, et al. Lung overexpression of matrix metalloproteinase-2 protects against bronchial asthma. *Eur Resp J.* 2015; 46(59):PA5084.
30. Takahashi Y, Kobayashi T, D'Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Fujiwara K, Okano T, et al. Protective role of matrix metalloproteinase-2 in allergic bronchial asthma. *Front Immunol.* 2019; 10(1795).
31. Arpino V, Brock M, Gill SE. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol.* 2015; 44–46:247–54.
32. Meng X-m, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- $\beta$ : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016; 12(6):325–38.
33. Chen G, Khalil N. TGF- $\beta$ 1 increases proliferation of airway smooth muscle cells by phosphorylation of map kinases. *Respir Res.* 2006; 7(1):2.
34. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.* 2000; 14(2):163–76.
35. Annes JB, Munger JS, Rifkin DB. Making sense of latent TGF $\beta$  activation. *J Cell Sci.* 2003; 116(2):217–24.
36. Clayton SW, Ban GI, Liu C, Serra R. Canonical and noncanonical TGF- $\beta$  signaling regulate fibrous tissue differentiation in the axial skeleton. *Sci Rep.* 2020; 10(1):21364.
37. Balzar S, Chu HW, Silkoff P, Cundall M, Trudeau JB, Strand M, et al. Increased TGF-beta2 in severe asthma with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115(1):110–7.
38. Chen G, Grotendorst G, Eichholtz T, Khalil N. GM-CSF increases airway smooth muscle cell connective tissue expression by inducing TGF-beta receptors. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;284(3):L548–56.

39. Costanza B, Umelo IA, Bellier J, Castronovo V, Turtoi A. Stromal Modulators of TGF- $\beta$  in Cancer. *J Clin Med*. 2017; 6(1):7.
40. Wnuk D, Paw M, Ryczek K, Bochenek G, Śladek K, Madeja Z, et al. Enhanced asthma-related fibroblast to myofibroblast transition is the result of profibrotic TGF- $\beta$ /Smad2/3 pathway intensification and antifibrotic TGF- $\beta$ /Smad1/5/(8)9 pathway impairment. *Sci Rep*. 2020; 10(1):16492.
41. Schwartz JT, Becker S, Sakkas E, et al. Glucocorticoids recruit Tgfr3 and Smad1 to shift transforming growth factor- $\beta$  signaling from the Tgfr1/Smad2/3 axis to the Acvrl1/Smad1 axis in lung fibroblasts. *J Biol Chem*. 2014; 289(6):3262–75.
42. Wei Y, Zhang Z, Wang F, Zhou S. Assessment of tumor growth factor- $\beta$ 1 neutralizing antibody in the treatment of allergic rhinitis and asthma. *Exp Ther Med*. 2018; 15(1):649–56.
43. Johansson MW. Activation states of blood eosinophils in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2014; 44(4):482–98.
44. Busse WW, Kraft M, Rabe KF, Deniz Y, Rowe PJ, Ruddy M, et al. Understanding the key issues in the treatment of uncontrolled persistent asthma with type 2 inflammation. *Eur Respir J*. 2021; 58(2):2003393.
45. Prakash Y. Emerging concepts in smooth muscle contributions to airway structure and function: implications for health and disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2016; 311(6):L1113–L140.
46. Zuyderduyn S, Sukkar MB, Fust A, Dhaliwal S, Burgess JK. Treating asthma means treating airway smooth muscle cells. *Eur Respir J*. 2008; 32(2):265–74.
47. Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ*. 2003; 27(1–4):201–6.
48. Doeing DC, Solway J. Airway smooth muscle in the pathophysiology and treatment of asthma. *J Appl Physiol*. 2013; 114(7):834–43.
49. Michalik M, Wójcik-Pszczola K, Paw M, Wnuk D, Koczurkiewicz P, Sanak M, et al. Fibroblast-to-myofibroblast transition in bronchial asthma. *Cell Mol Life Sci*. 2018; 75(21):3943–61.
50. Kohan M, Muro AF, White ES, Berkman N. EDA-containing cellular fibronectin induces fibroblast differentiation through binding to  $\alpha$ 4 $\beta$ 7 integrin receptor and MAPK/Erk 1/2-dependent signaling. *FASEB J*. 2010; 24(11):4503–12.
51. Altman LC, Hill JS, Hairfield WM, Mullarkey MF. Effects of corticosteroids on eosinophil chemotaxis and adherence. *J Clin Invest*. 1981; 67(1):28–36.
52. Zhang T, Day JH, Su X, Guadarrama AG, Sandbo NK, Esnault S, et al. Investigating Fibroblast-Induced Collagen Gel Contraction Using a Dynamic Microscale Platform. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019; 7:196.
53. Sapienza S, Du T, Eidelman D, Wang N, Martin J. Structural changes in the airways of sensitized brown Norway rats after antigen challenge. *Am Rev Respir Dis*. 1991; 144(2):423–7.
54. Aszodi A, Legate KR, Nakchbandi I, Fässler R. What mouse mutants teach us about extracellular matrix function. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2006; 22:591–621.
55. Yamauchi E, Shoji S, Nishihara M, Shimoda T, Nishima S. Contribution of lung fibroblast migration in the fibrotic process of airway remodeling in asthma. *Allergol Int*. 2008; 57(1):73–8.
56. Muniz VS, Weller PF, Neves JS. Eosinophil crystalloid granules: structure, function, and beyond. *J Leukoc Biol*. 2012; 92(2):281–8.
57. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *A Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(5):1720–45.
58. McBrien CN, Menzies-Gow A. The biology of eosinophils and their role in asthma. *Front Med*. 2017; 4:93.
59. Saito K, Nagata M, Kikuchi I, Sakamoto Y. Leukotriene D4 and eosinophil transendothelial migration, superoxide generation, and degranulation via  $\beta$ 2 integrin. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004; 93(6):594–600.
60. Sukkar MB, Stanley AJ, Blake AE, Hodgkin PD, Johnson PR, Armour CL, et al. 'Proliferative' and 'synthetic' airway smooth muscle cells are overlapping populations. *Immunol Cell Biol*. 2004; 82(5):471–8.
61. Makinde T, Murphy RE, Agrawal DK. The regulatory role of TGF-beta in airway remodeling in asthma. *Immunol Cell Biol*. 2007; 85(5):348–356.
62. Halayko AJ, Camoretti-Mercado B, Forsythe SM, Vieira JE, Mitchell RW, Wylam ME, et al. Divergent differentiation paths in airway smooth muscle culture: induction of functionally contractile myocytes. *Am J Physiol*. 1999; 276(1):L197–206.
63. Halayko AJ, Salari H, Ma X, Stephens NL. Markers of airway smooth muscle cell phenotype. *Am J Physiol*. 1996; 270(6 Pt 1):L1040–51.
64. Burgess JK, Johnson PR, Ge Q, Au WW, Poniris MH, McParland BE, et al. Expression of connective tissue growth factor in asthmatic airway smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 167(1):71–7.
65. White ES. Lung extracellular matrix and fibroblast function. *Ann Am Thorac Soc*. 2015; 12.
66. Al-Alawi M, Hassan T, Chotirmall SH. Transforming growth factor  $\beta$  and severe asthma: a perfect storm. *Respir Med*. 2014; 108(10):1409–23.
67. Scharenberg MA, Pippenger BE, Sack R, Zingg D, Ferralli J, Schenk S, et al. TGF- $\beta$ -induced differentiation into myofibroblasts involves specific regulation of two MKL1 isoforms. *J Cell Sci*. 2014; 127(5):1079–91.
68. Weitoft M, Andersson C, Andersson-Sjöland A, Tufvesson E, Bjermer L, Erjefält J, et al. Controlled and uncontrolled asthma display distinct alveolar tissue matrix compositions. *Respir Res*. 2014; 15(1):67.

# Eosinophils promote proliferation of pulmonary structural cells by stimulating extracellular matrix production in asthma

EOZINOFILAI SKATINA PLAUČIŲ STRUKTŪRINIŲ LĄSTELIŲ PROLIFERACIJĄ STIMULIUODAMI TARPLĄSTELINIO UŽPILDO PRODUKCIJĄ SERGANT ASTMA

AIRIDAS RIMKŪNAS<sup>1</sup>, ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS<sup>1</sup>, EGLĖ VASYLĖ<sup>1</sup>, JOLITA PALAČIONYTĖ<sup>2</sup>, IEVA JANULAITYTĖ<sup>1</sup>, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>LSMU MA Pulmonologijos klinika Pulmonologijos laboratorija, <sup>2</sup>LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Summary. Introduction.** Eosinophilic asthma can be characterized by intense infiltration of eosinophils into the airways, where they abundantly release various cytokines, chemokines and growth factors. Airway remodeling is closely related to increased airway smooth muscle (ASM) mass; however, another important feature could be changes in extracellular matrix (ECM) homeostasis, driven by the production of ECM proteins and metalloproteinases by lung structural cells. **Aim.** To evaluate and compare eosinophil adhesion to ASM cells and pulmonary fibroblasts or their secreted ECM and the effect on pulmonary structural cell autocrine proliferation adjustment in asthma. **Methods.** A total of 12 allergic asthma (AA), 8 severe eosinophilic asthma (SEA) patients and 11 healthy subjects (HS) were examined. Blood eosinophils were isolated using high density Ficoll centrifugation and magnetic separation. For each study individual combined cell cultures (co-cultures) between isolated eosinophils and pulmonary structural cells or their secreted ECM were prepared. ECM purification was performed using ammonium hydroxide (NH<sub>4</sub>OH) based cell lysis. Eosinophils adhesion was evaluated by measuring eosinophils peroxidase activity in co-cultures; pulmonary structural cell proliferation was measured by AlamarBlue assay. **Results.** In all investigated groups eosinophil adhesion to ECM was significantly increased compared to eosinophil adhesion to ASM cells and pulmonary fibroblasts ( $p < 0.01$ ). Eosinophil adhesion to ASM cells and pulmonary fibroblasts or their secreted ECM in asthma groups was significantly enhanced compared to HS group ( $p < 0.05$ ). Isolated ASM cell or pulmonary fibroblast' produced ECM after co-cultures with AA, SEA and HS eosinophils promoted newly seeded ASM cell and pulmonary fibroblast proliferation ( $p < 0.01$ ) with stronger effect in both asthma groups. ECM, isolated after combined cultures with AA, SEA or HS eosinophils and the blood serum of the study patient also significantly promoted the proliferation of ASM cells and pulmonary fibroblasts ( $p < 0.01$ ). Isolated ASM cell or pulmonary fibroblast' produced ECM after co-cultures with AA and SEA eosinophils had a stronger effect to newly seeded pulmonary structural cell proliferation than after co-cultures with HS eosinophils. **Conclusions.** Eosinophils demonstrate enhanced adhesion to ECM components than to ASM cells or pulmonary fibroblasts, and adhesion further increases in asthma. Pulmonary structural cells promote their proliferation in autocrine manner via released ECM components after incubation with eosinophils in asthma.

**Keywords:** eosinophils, extracellular matrix, proliferation, airway smooth muscle, pulmonary fibroblast, asthma.

**Santrauka. Įvadas.** Eozinofilinei astmai būdinga intensyvesnė eozinofilų – svarbiausių uždegiminių ląstelių šios ligos patogenezėje – infiltracija į kvėpavimo takus, kur jie gausiai išskiria įvairius citokinus, chemokinus ir augimo faktorius. Kvėpavimo takų remodeliacija yra susijusi su padidėjusia bronchų lygiųjų raumenų (BLR) mase, tačiau kitas svarbus veiksnys gali būti BLR ląstelių arba plaučių fibroblastų tarpląstelinio užpildo baltymų ir metaloproteinazių gamybos ir funkcijų pokyčiai. **Tyrimo tikslas** – įvertinti bei palyginti eozinofilų adhezijos prie plaučių struktūrinių ląstelių arba jų išskirto tarpląstelinio užpildo skirtumus bei poveikį plaučių struktūrinių ląstelių autokrininės proliferacijos reguliavimui sergant astma. **Tyrimo metodai.** Tyrimo metu buvo ištirta 12 alerginės astmos (AA) ir 8 sunkios eozinofilinės astmos (SEA) pacientų bei 11 sveikų asmenų (SA). Kraujo eozinofilai išskirti naudojant centrifugavimą aukšto tankio Ficoll gradiente ir magnetinę separaciją. Kiekvienam tiriamajam buvo sudaromos kombinuotos kultūros tarp plaučių struktūrinių ląstelių arba jų pagamintų tarpląstelinio užpildo komponentų ir išskirtų kraujo eozinofilų. Tarpląstelinio užpildo komponentai išgryninti pritaikant osmotinį ląstelių lizės amonio hidroksidu metodą, kurio metu yra suardoma ląstelinė kultūros dalis, tačiau lėkštelės dugne išsaugoma stabili, netirpi tarpląstelinio užpildo struktūra. Eozinofilų adhezija prie plaučių struktūrinių ląstelių įvertinta matuojant eozinofilų peroksidazės aktyvumą kombinuotose kultūrose. Plaučių struktūrinių ląstelių proliferacija vertinta praėjus 48 val. po naujų ląstelių užsėjimo ant tarpląstelinio užpildo komponentų naudojant Alamaro mėlio reagentą. **Rezultatai.** Visose tiriamųjų grupėse eozinofilų adhezija prie tarpląstelinio užpildo buvo reikšmingai didesnė, lyginant su adhezija prie BLR ląstelių ir plaučių fibroblastų ( $p < 0,01$ ). Eozinofilų prisitvirtinimas astmos grupėse buvo reikšmingai intensyvesnis, lyginant su SA grupe ( $p < 0,05$ ). Tarpląstelinio užpildo komponentai, išskirti po plaučių struktūrinių ląstelių inkubacijos su visų grupių eozinofilais, skatino naujai užsėtą BLR

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

ląstelių arba plaučių fibroblastų proliferaciją ( $p < 0,01$ ), o tiriamųjų kraujo serumas papildomai sustiprino šį poveikį ( $p < 0,01$ ). Tarpląstelinio užpildo komponentai, išgryninti po BLR ląstelių ir plaučių fibroblastų inkubacijos su AA ir SEA grupių eozinofilais reikšmingai intensyviau skatino naujai užsėtų plaučių struktūrinių ląstelių proliferaciją ( $p < 0,05$ ), lyginant su SA eozinofilais. **Išvados.** Eozinofilai intensyviau prisitvirtina prie tarpląstelinio užpildo komponentų negu prie BLR ląstelių ar plaučių fibroblastų, o sergant astma eozinofilų adhezija yra padidėjusi. Po sąveikos su eozinofilais plaučių struktūrinės ląstelės skatina savo proliferaciją autokrininiais mechanizmais, dėl pakitusios tarpląstelinio užpildo komponentų produkcijos sergant astma. **Reikšminiai žodžiai:** eozinofilai, tarpląstelinis užpildas, proliferacija, bronchų lygieji raumenys, plaučių fibroblastai, astma.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1019>

## INTRODUCTION

Asthma can be characterized by a more intense eosinophil infiltration into the airways, where they abundantly release various cytokines, chemokines and growth factors. Eosinophils – are the most important inflammatory cell in asthma pathogenesis, though make up less than 5 % total peripheral blood leukocyte counts; however, the maturation of these granulocytes in bone marrow intensifies in response to the regulated inflammatory response, turning them into a major effector cells in inflammatory processes. In allergic asthma (AA) cases, T helper type 2 (Th2) cells release cytokines such as interleukin (IL) 4, IL-5 and IL-13, thus prompting type 2 immunity, which consists of excessive antibody titers leading to eosinophilia. On the other hand, non-allergic eosinophilic asthma patients have elevated numbers of type 2 innate lymphoid cells (ILC2s), which upon stimulation with the epithelial cytokines produce Th2-associated cytokines such as IL-5, which is important for eosinophil differentiation, maturation and migration [1]. Before blood eosinophils are sent to sites of inflammation, they need to be activated [2]. For the most part, it depends on cytokines IL-3, IL-5, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and chemokines of eotaxin family [3, 4].

Chronic eosinophilic airway inflammation leads to airway hyperreactivity and structural airway changes, also described as remodeling [5, 6]. Airway remodeling can be described as structural epithelial changes, subepithelial fibrosis and increased bronchial smooth muscle mass due to cell hyperplasia and hypertrophy. However, new studies suggest [7] that another important airway remodeling reason could be the changes in extracellular matrix (ECM) homeostasis, induced by airway smooth muscle (ASM) cell and pulmonary fibroblast ECM protein production and disturbed ECM protein decomposition enzymes, also known as metalloproteinases function.

ECM is a non-cellular part of every tissue and organ, which is a dynamic complex of proteoglycans, glycosaminoglycans, glycoproteins and collagens. Collagen makes up the majority of lung ECM protein. Fibrillary collagens (I, II, III, V, and XI) contribute to the broad structure of the lungs, and large elastic fib-

ers provide elasticity to the lungs. Elastic fibers consist of two components: elastin – a highly crosslinked protein, and fibrillin containing microfibrils. While microfibrils serve as a scaffold for elastin, they are also important modulators of growth factor allocation and function [8]. Growth factors, such as transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1, are secreted as a dormant latent dimer bound to a member of the latent TGF $\beta$ -binding protein (LTBP) family [9]. This large complex can then covalently bind to fibrillin molecules in the microfibrils [10], creating a latent growth factor reserve in the ECM that can be activated and mobilized, when required, through interactions with  $\alpha$ v $\beta$ 6 or  $\alpha$ v $\beta$ 8 integrins, proteases, and other factors [9]. Essential cell differentiation and proliferation factors, such as fibroblast growth factor (FGF), TGF- $\beta$  and various cytokines may accumulate in the ECM [11]. Altered ECM around ASM cells may affect their physiological activity, thus promoting the development of airway remodeling [12]. Miofibroblasts, the active form of fibroblast, secrete and organize ECM, which provides structural support for their adhesion, migration, and tissue organization, besides regulating cellular functions such as growth and survival. Miofibroblasts are the principal contributors to synthesis of ECM in most types of tissue, including the lung [13]. ECM structural and functional molecules create an environment, where nearby cells can communicate via cell-cell or cell-ECM interactions. The matrix structure, composition and amount can change cell behaviour, polarity, migration, differentiation, proliferation and viability [14]. Cell-ECM interaction is mediated by transmembrane cell adhesion receptors and integrins [15], which interact with cytoplasmic integrin tip and transmits bidirectional signals between ECM and intracellular signaling pathways. After migrating through blood vessel endothelium, eosinophils adhere to pulmonary structural cells or ECM proteins when their integrins recognise cell receptors or protein ligands [16]. Eosinophils are an important source of growth factors and cytokine, which could promote production of ECM proteins by pulmonary structural cell [17].

The protein composition of the ECM in the airways changes in asthma [11]. Fibroblasts and myofibroblasts are major producers of ECM components in the lungs,

but airway epithelial cells and bronchial smooth muscle cells are also important sources of these components [7, 18]. In response to lesions, fibroblasts migrate to the site of inflammation and differentiate into myofibroblasts [19], which specialize in ECM production. Myofibroblasts facilitate wound healing by additional secretion of ECM proteins – collagens I, III, and V, fibronectin, tenascin, and proteoglycans – lumican, versican, biglycan, and decorin [20]. Unusual ECM protein deposition is a characteristic feature of chronic asthma, causing airway stiffness and narrowing, and differences in ECM protein expression may reflect specific asthma endotypes [6].

We hypothesized that eosinophil adhesion to pulmonary structural cells might differ from adhesion to ECM proteins. Furthermore, recent studies suggest that eosinophils can promote pulmonary structural cell proliferation [21], however there is not enough data about eosinophil disturbed ECM protein production which could also affect cell behavior. We used a decellularization technique to mimic *in vivo* processes by allowing investigated ASM cells and pulmonary fibroblasts to proliferate and deposit their own ECM components rather than using commercial proteins to coat tissue culture plates for our experiments.

## EXPERIMENTAL SECTION

### Ethics

The research protocol was approved by the Regional Biomedical Research Ethics Committee of the Lithuanian University of Health Sciences (BE-2-13). The study was registered in the U.S. National Institutes of Health trial registry ClinicalTrials.gov with identifier NCT03388359.

### Study population

The study included severe eosinophilic asthma (SEA) patients, free of steroid non-severe allergic asthma (AA) patients, and healthy subjects (HS), who comprised the control group. The participants in this study were adult women and men, aged between 18 and 75 years who signed written informed consent prior to enrolling in the study. Investigated participants were all patients from the Department of Pulmonology, Hospital of the Lithuanian University of Health Sciences.

Admission criteria for the SEA group were: diagnosed with asthma  $\geq 12$  months; blood eosinophil count  $\geq 0.3 \times 10^9/L$  throughout the screening visit or  $\geq 0.15 \times 10^9/L$  if with recorded eosinophil amount  $\geq 0.3 \times 10^9/L$  in the 1 year period prior the screening; no other indications that could cause poor control of asthma symptoms; recorded at least 1 year treatment of high doses of inhaled corticosteroids combined with long-acting beta-agonist  $\pm$  episodic use of oral corticosteroids  $\pm$  long-acting antimuscarinic agent

prior to inclusion in the study; in the 1 year before the screening visit  $\geq 2$  exacerbations of asthma that required treatment with systemic glucocorticoids.

The non-severe AA group involved patients with recent and untreated mild AA, confirmed with symptoms and medical history no less than 12 months, positive skin prick test to clinically important allergen(s), and positive bronchial provocation with methacholine or bronchodilator reversibility test.

HS tested negative to clinically relevant allergen(s) and were without allergic and other chronic respiratory diseases.

Rejection criteria consisted of asthma exacerbation in less than a month before the study, clinically relevant permanent allergy symptoms, active airway infection 1 month before the study, use of oral steroids  $\leq 1$  month before the study, and treatment with targeted (biological) therapy (such as mepolizumab, benralizumab, omalizumab).

All participants were neither current nor former smokers.

### Study design

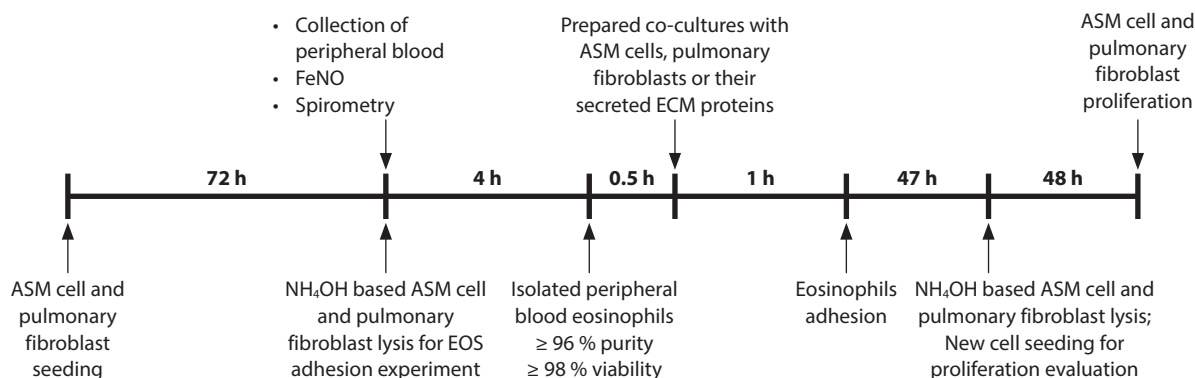
In the beginning, all participants underwent spirometry, skin prick test, physical examination and a methacholine challenge test to confirm the admission and exclusion criteria. If participants fulfilled the criteria, they were introduced about the requirements for participation in the study and informed written agreement was acquired.

72 hours before peripheral blood extraction, pulmonary structural cells – ASM cells and pulmonary fibroblasts – were seeded into cell culture plates (Fig. 1). During the participants visit, peripheral blood was drawn and exhaled FeNO was measured. Separated blood eosinophils viability and amount was assessed, then eosinophils were immediately used in fixed amounts to create co-cultures with ASM cells and pulmonary fibroblasts or their secreted ECM proteins for eosinophil adhesion and cell proliferation experiments. If the eosinophil yield was  $< 1.5 \times 10^6/20$  mL blood; purity  $< 96$  %; viability  $< 98$  %; the investigated subject was excluded from the study. All data presented in the manuscript were from participants who passed these criteria.

### ASM Cell and Pulmonary Fibroblast Cultivation *in vitro*

During the study we used healthy human ASM cells, immortalized by stable expression of human telomerase reverse transcriptase as described [22], and a commercial MRC-5 (Sigma, Ronkonkoma, NY, USA) lung fibroblast cell line. Both cell lines were grown in cultivation conditions of 5 % CO<sub>2</sub> in air at 37 °C with culture medium renewal every 3 days. To avoid diminish-

# Moksliniai darbai ir apžvalgos



**Fig. 1. Study design and experimental plan.**

ASM – airway smooth muscle. ECM – extracellular matrix. EOS – eosinophils. NH<sub>4</sub>OH – ammonium hydroxide. FeNO - fractional exhaled nitric oxide.

ing in cell viability and activity after repeated number of cell passage, novel cells of the mainline were thawed each time after 6 passages. ASM cells were grown in “Dulbecco’s modified Eagle’s medium (DMEM)” (GIBCO by Life Technologies, UK), meanwhile pulmonary fibroblasts were grown in “Eagle’s minimum essential medium (EMEM)” (GIBCO, Paisley, UK). Both cell culture mediums were supplemented with antibiotics penicillin/streptomycin (2 % v/v; Pen-Strep, GIBCO by Life Technologies, Paisley, UK), antifungal amphotericin B (1 % v/v; GIBCO, Paisley, UK), and cell growth supplement fetal bovine serum (FBS) (10 % v/v; GIBCO by Life Technologies). Before every experiment ASM and MRC-5 cells were serum-starved in respective medium, supplemented with penicillin/streptomycin, amphotericin B and insulin, transferrin, and selenium reagent (GIBCO by Life Technologies) to stop further cell proliferation and reduce possible errors due to the effect of serum mediators.

## Blood Eosinophil Isolation and Purification

Patients’ peripheral blood samples were collected into sterile vacutainers with dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid (K<sub>2</sub>EDTA) (BD Bioscience, San Jose, CA, USA). Blood was then diluted with 1x phosphate-buffered saline (PBS) (GIBCO, Paisley, UK), layered on high density Ficoll-Paque PLUS reagent (GE Healthcare, Helsinki, Finland) and centrifuged at 400 × g force for 30 min at room temperature. Afterwards the upper layers were removed, and the bottom-most layer comprised of granulocytes and erythrocytes was collected, washed with sterile H<sub>2</sub>O and 2x concentrated PBS then centrifugated at 300 × g force for 10 min at room temperature. This step was repeated until no red blood cells were left.

Then, enriched granulocytes amount and viability was evaluated using automatic cell counter ADAM (Witec AG, Switzerland). Eosinophil isolation and purification was performed by negative selection from the granulocyte layer using Magnetic-activated cell sorting (MACS) magnetically-labeled MicroBeads

(Miltenyi Biotec, Somerville, MA, USA). The producer claim that eosinophil purification kits do not influence their viability, and that isolation efficiency is more than 96 %. Once eosinophils were separated, their amount and viability were assessed using automatic cell counter ADAM.

## ASM Cell and Pulmonary Fibroblast’ Secreted ECM Purification with NH<sub>4</sub>OH Based Cell Lysis

ECM production and harvesting protocols were adapted to laboratory conditions [13, 23]. To extract the insoluble ECM layer, a 50 mM ammonium hydroxide (NH<sub>4</sub>OH) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) solution was used to lyse the cell cultures. NH<sub>4</sub>OH solution was added to each well and incubated up to 10 minutes. During the incubation cells were observed under inverse light microscope (CETI, Inverso TC100, Medline Scientific, Chalgrove, UK) with installed XM-10-IR-2 camera (Olympus, Tokyo, Japan) while constantly gently shaking the plate to fully lyse all cells. When there were no visible cells left the liquid was aspirated and wells were washed 3 times with isotonic PBS and incubated 15 minutes with PBS in the thermostat to further wash any NH<sub>4</sub>OH residue.

For adhesion assay, after the initial 3-day incubation the medium was removed and cells were washed once with PBS, and ECM was extracted as previously described. The insoluble ECM components attached to the bottom of the tissue culture plates were used for eosinophil adhesion experiments.

For ASM cell and pulmonary fibroblast proliferation assay, after the initial 3-day incubation the culture medium was removed and cells were washed once with PBS, ECM extracted as previously described, then supplemented with either DMEM or EMEM with 2 % FBS, respectively. After eosinophil enrichment from patients’ peripheral blood, combined cell cultures were prepared and incubated for 2 days at standard conditions. After incubation, medium was removed and wells were washed once with PBS then lysed with 50 mM NH<sub>4</sub>OH solution as previously described.

New ASM cells and pulmonary fibroblasts ( $1.5 \times 10^4$  in each well) were seeded onto ECM coated wells and incubated with 2 % FBS DMEM/EMEM for 2 days at standard conditions. After incubation cell proliferation was evaluated using AlamarBlue assay.

## Eosinophil Adhesion to Pulmonary Structural Cells or Their Secreted ECM Evaluation

ASM cells and pulmonary fibroblasts were seeded into 24-well tissue culture plates ( $1 \times 10^4$  cells in each well) in DMEM for ASM cells or EMEM for pulmonary fibroblasts, both supplemented with 10 % FBS and cultivated for 3 days at standard conditions. Afterwards, the culture medium was aspirated, and each well washed once with warm isotonic PBS. The culture medium was changed 1 day before the experiments by supplementing cells with serum-free medium as described earlier. Half of the wells were lysed with  $\text{NH}_4\text{OH}$  to extract ECM components as described earlier. After eosinophil enrichment from patients' peripheral blood, combined cell cultures were prepared and eosinophil adhesion to pulmonary structural cells or their secreted ECM components was measured after 1 h of incubation, which is deemed a sufficient amount for stable eosinophils adhesion in co-culture. After incubation, non-attached eosinophils were aspirated, and wells were rinsed once with warm isotonic PBS. Eosinophil adhesion was evaluated by measuring residual eosinophil peroxidase (EPO) activity. To evaluate EPO activity, 116  $\mu\text{L}$  of DMEM medium without phenol red and 116  $\mu\text{L}$  of EPO substrate (1 mM *o*-phenylenediamine, 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  and 0.1 % Triton X-100 in Tris buffer, pH 8.0) were supplemented to each investigated well. After 30 min of incubation at standard conditions, 58  $\mu\text{L}$  of 4 M sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) was supplemented to each investigated well to end the reaction and the absorbance was assessed at 490 nm by a microplate spectrophotometer. Results were represented as % of attached eosinophil number from total added, calculated from a control eosinophil amount ( $1.25 \times 10^4$ ) absorbance result.

## AlamarBlue Cell Proliferation Assay

Pulmonary structural cells for proliferation experiments were cultivated in 24-well plates ( $5 \times 10^3$  cells in each well) in conditions previously described. Cultivation medium was changed into the 2 % FBS medium before the experiments. ASM cells or pulmonary fibroblasts were co-cultured with a respective group of eosinophils isolated from AA patients, SEA patients, or the healthy subjects for 48 h. Some of the wells were supplemented with investigated subjects' serum (2 % *v/v*). After 48 h incubation, cells were lysed with  $\text{NH}_4\text{OH}$  to extract ECM proteins as described earlier. Afterwards new ASM cells or pulmonary fibroblasts

were seeded into each well ( $1.5 \times 10^4$  cells/well) in 2 % FBS cultivation medium for 2 days. Cell proliferation was assessed by adding Hank's balanced salt and AlamarBlue reagent (10 % *v/v*; Invitrogen by Life Technologies, Paisley, UK). Conversion of AlamarBlue reagent resazurin to the reduced form known as resofurin was dependent on the ASM and MRC-5 cells metabolic activity, which was measured by dual-wavelength spectrophotometry at wavelengths of 570 nm and 600 nm. As stated by the manufacturer, the amount of AlamarBlue conversion is directly proportional to the number of viable cells. The results are expressed as the percentage increase or decrease in AlamarBlue reagent conversion by ASM or MRC-5 cells compared with the control pulmonary structural cells (co-cultured without eosinophils).

## Statistical Analysis Methods

Statistical data analysis was conducted using GraphPad Prism 8 for Windows (ver. 8.0.1, 2018; GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Differences between two independent groups were evaluated using the Mann-Whitney two-sided U-test. The Wilcoxon matched-pairs signed-rank two-sided test was used for two dependent groups. A value of  $p < 0.05$  was deemed statistically significant.

## RESULTS

### Characteristics of the Studied Participants

**Table 1. Demographic and clinical characteristics of study population.**

	AA patients (n = 12)	SEA patients (n = 8)	Healthy subjects (n = 11)
Age, years	27.3 ± 2.6	55.1 ± 6*#	31.4 ± 3
Sex (Male/Female), n	7/5	3/5	5/6
BMI, kg/m <sup>2</sup>	22.9 ± 1.0	29.8 ± 1.3*#	24.6 ± 1.1
FEV <sub>1</sub> , L	3.9 ± 0.3	1.8 ± 0.4*#	4.1 ± 0.3
FEV <sub>1</sub> , % of predicted	88.8 ± 2.4*	54.4 ± 6.2*#	107 ± 4
Blood eosinophil count ( $\times 10^9$ )/L	0.54 ± 0.07*	0.7 ± 0.22*#	0.17 ± 0.04
IgE, IU/mL	394 ± 110*	168 ± 82.4*	23.4 ± 3.8
FeNO, ppb	47 ± 9.5*	67.7 ± 12.8*	14.3 ± 1.8

Data presented as mean ± standard error of mean; AA – allergic asthma; BMI – body mass index; FeNO – Fractional exhaled nitric oxide; FEV<sub>1</sub> – Forced expiratory volume in 1 s; IgE – immunoglobulin E; SEA – severe eosinophilic asthma; \* $p < 0.05$  compared to healthy subject group; # $p < 0.05$  compared with AA group. Statistical analysis – Mann Whitney two-sided U-test between two independent groups.

All patients diagnosed with allergic asthma were susceptible to *D. pteronyssinus* house dust mites. Blood eosinophils count, IgE and FeNO in patients with AA and SEA were significantly higher compared to the healthy subject group. In addition, the AA and SEA



# Moksliniai darbai ir apžvalgos

groups showed a significant decrease in lung function compared to healthy subject group. Comparing asthma phenotypes, there is a tendency for SEA to occur in older age, more often in women. In our study, the SEA patients were significantly older than AA patients and healthy subjects as SEA has late-onset manifestation. Moreover, it has been suggested that eosinophil degranulation, but not adhesion, was higher in younger patients group compared to older asthma patients [24]. However, we state that the age distinctness did not influence our data as investigation relied on the severity of the illness but not on the age groups.

## Eosinophil Adhesion to ASM Cells and Pulmonary Fibroblasts or Their Secreted ECM

We observed that  $71.8 \pm 1.9$  % of AA patients' eosinophils adhere to airway smooth muscle (ASM) cells, meanwhile  $87.2 \pm 1.6$  % eosinophils adhered to ASM cell secreted ECM ( $p < 0.0001$ ). Similarly,  $69.5 \pm 3.2$  % of SEA patients' eosinophils adhered to ASM cells vs.  $88.3 \pm 1.2$  % to secreted ECM ( $p < 0.0001$ ). In healthy subject group –  $56.8 \pm 2.6$  % vs.  $75.5 \pm 1.3$  % ( $p < 0.0001$ ) (Fig. 2 A). In all groups eosinophil adhesion to ECM was significantly increased compared to eosinophil adhesion to ASM cells. There were no significant differences between asthma groups, however eosinophil adhesion to ASM cells or their secreted ECM in asthma groups was significantly increased compared to healthy subject group.

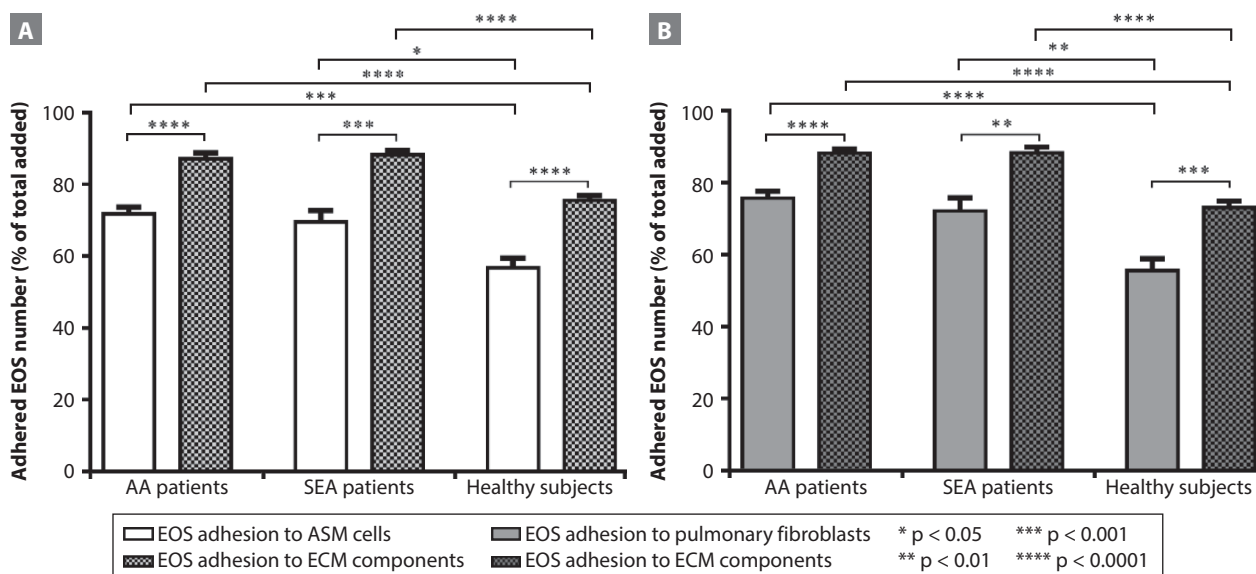
Eosinophils migrating into the airways can also interact with lung fibroblasts in connective tissue; thus we evaluated eosinophil adhesion to pulmonary fibroblasts and their secreted ECM components.

We observed that  $75.7 \pm 1.9$  % of AA patients' eosinophils adhere to pulmonary fibroblasts, meanwhile  $88.2 \pm 1.1$  % eosinophils adhered to secreted ECM ( $p < 0.0001$ ) (Fig. 2 B). Similarly,  $72.1 \pm 3.7$  % of SEA patients' eosinophils adhered to pulmonary fibroblasts vs.  $88.3 \pm 1.6$  % to secreted ECM ( $p < 0.01$ ). In healthy subject group –  $55.5 \pm 3.4$  % vs.  $73.1 \pm 1.8$  % ( $p < 0.001$ ). We found that the trends remained similar – in all groups eosinophil adhesion to ECM was significantly increased compared to adhesion to pulmonary fibroblasts. There were no significant differences between asthma groups; however, eosinophil adhesion to pulmonary fibroblasts or their secreted ECM in asthma groups was significantly increased compared to healthy subject group.

## ASM Cell and Pulmonary Fibroblasts Proliferation Autocrine Adjustment via ECM

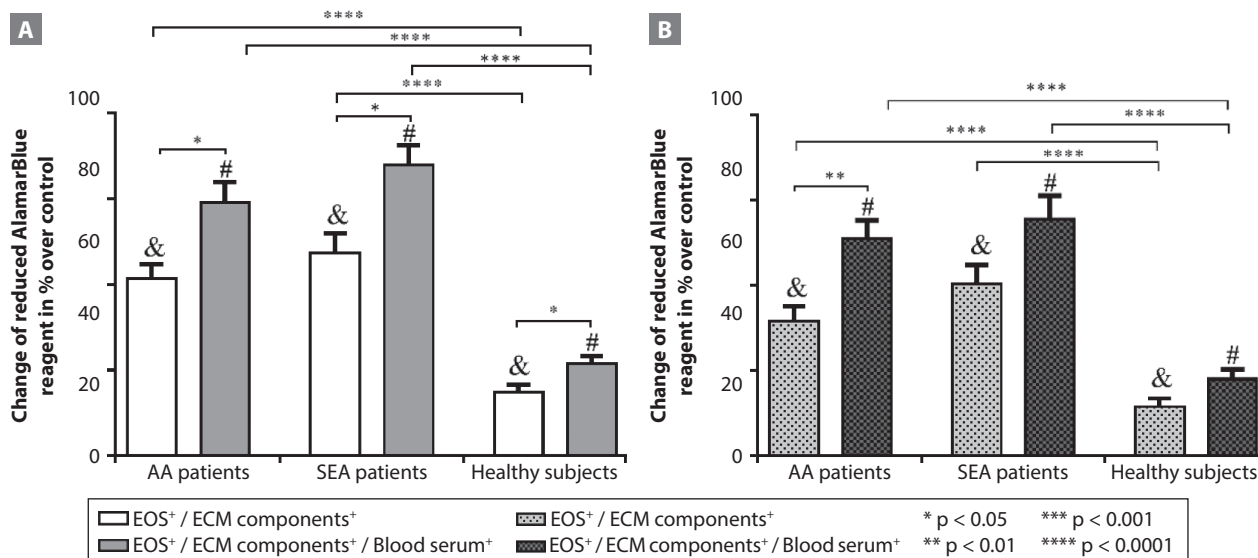
Isolated ASM cell produced ECM components after co-cultures with AA, SEA and HS eosinophils promoted newly seeded ASM cell proliferation, ASM cell count after 48 h was  $10.4 \pm 0.8$  % in AA,  $11.8 \pm 1.2$  % in SEA and  $3.7 \pm 0.5$  % in healthy subject group higher ( $p < 0.01$ ) compared to ASM cells grown on ECM which was produced by incubating ASM cells without eosinophils (Fig. 3 A).

Meanwhile, ECM proteins, isolated after co-cultures with AA, SEA or HS eosinophils and patients blood serum supplement also significantly promoted the proliferation of newly seeded ASM cells by  $14.8 \pm 1.2$  %,  $17.0 \pm 1.1$  % and  $5.4 \pm 0.4$  % respectively ( $p < 0.01$ ) compared to ASM cells grown on ECM which was produced by incubating ASM cells with patients' blood



**Fig. 2. Eosinophil adhesion to ASM cells and pulmonary fibroblasts or their secreted ECM components: (A) Eosinophil adhesion to ASM cells or their secreted ECM; (B) Eosinophil adhesion to pulmonary fibroblasts or their secreted ECM.**

AA (allergic asthma) n = 11; SEA (severe eosinophilic asthma) n = 8; Healthy subjects n = 11. Results are shown as mean ± standard error of mean. ASM – airway smooth muscle. ECM – extracellular matrix. EOS – eosinophils. Statistical analysis – Mann-Whitney two-sided U-test between two independent groups, Wilcoxon matched-pairs signed-rank two-sided test for dependent groups.



**Fig. 3. Newly seeded pulmonary structural cell proliferation on ECM, purified from ASM cell or pulmonary fibroblast co-cultures with eosinophils: (A) Eosinophil disturbed ECM production effect on ASM cell proliferation; (B) Eosinophil disturbed ECM production effect on pulmonary fibroblast proliferation.**

AA (allergic asthma) n = 12; SEA (severe eosinophilic asthma) n = 8; Healthy subjects n = 9. Results are displayed as mean ± standard error of mean. EOS – eosinophils. ECM – extracellular matrix. Statistical analysis – Mann–Whitney two-sided U-test between two independent groups, Wilcoxon matched-pairs signed-rank two-sided test for dependent groups.

& – p < 0.01 compared to pulmonary structural cells grown on ECM which was produced by incubating pulmonary structural cells without eosinophils. # – p < 0.01 compared to pulmonary structural cells grown on ECM which was produced by incubating pulmonary structural cells with patients' blood serum, without eosinophils.

serum supplement but without eosinophils (Fig. 3 A). No significant differences were found between the asthma groups, however, ASM cell proliferation was more intense in both asthma groups compared to the healthy subject group.

Similarly, pulmonary fibroblast produced ECM, isolated after co-cultures with AA, SEA and healthy subject eosinophils promoted newly seeded pulmonary fibroblast proliferation by 7.9 ± 0.9 % in AA, 10.1 ± 1.1 % in SEA and 2.9 ± 1.5 % in HS group (&p < 0.01) compared to pulmonary fibroblasts grown on ECM which was produced by incubating pulmonary fibroblasts without eosinophils (Fig. 3 B). Meanwhile, pulmonary fibroblast produced ECM proteins, isolated after co-cultures with AA, SEA and healthy subject eosinophils and patients' blood serum supplement also promoted lung fibroblast proliferation by 12.7 ± 1.1%, 13.9 ± 1.4 % and 4.5 ± 0.6 % respectively (#p < 0.01) compared to pulmonary fibroblasts grown with the subjects' blood serum but not affected by eosinophils (Fig. 3 B). Similarly to ASM cells, pulmonary fibroblast proliferation was more intense in the AA and SEA groups compared with the healthy subject group.

## DISCUSSION

This study showed that the adhesion of eosinophils to ECM in all study groups was found to be significantly higher compared to adhesion to ASM cells and pulmonary fibroblasts. In addition, eosinophils from AA and SEA patients adhered more actively to lung structural

cells produced ECM compared with healthy subjects' eosinophils. Isolated ASM cell or pulmonary fibroblast produced ECM after combined cultures with AA, SEA and HS eosinophils, promoted newly seeded ASM cell and pulmonary fibroblast proliferation. ECM, isolated after co-culturing with AA, SEA or HS eosinophils and patients' blood serum supplement also significantly promoted the proliferation of newly seeded ASM cells and pulmonary fibroblasts. ASM cell and pulmonary fibroblast proliferation was more intense in both asthma groups compared to healthy subject group.

Increased eosinophil adhesion in asthma may be explained by an increase in the expression of outer membrane integrins or a different state of integrin activation [2], which results in eosinophils adhering more rapidly to ECM component ligands. The cytokines produced by the airway epithelium, IL-25, IL-33 and thymic stromal lymphopoietin (TSLP), also known as alarmins, are thought to be released in response to different bronchial epithelial stimuli (such as allergens, atmospheric pollutants, infectious agents), thus inducing eosinophils differentiation, maturation and migration into the airways. In our previous publications it was shown that AA patients' eosinophils displayed increased surface integrin gene expression compared to healthy subject group [25, 26]. The results in this study further suggest that eosinophils adhere more actively to ECM than to pulmonary structural cells possibly due to the expression of more ECM component-specific integrins and adhesion molecules

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

on the eosinophil membrane surface. Another reason might be due to the presence of more specific ECM component integrins in the active phase than active integrins specific for pulmonary structural cells, and these processes are further enhanced in asthma. This could be due to the fact that eosinophil recruitment from the bloodstream depends on peripheral blood eosinophils becoming “activated”, which leads to their arrest on endothelium, extravasation and continued migration through the bronchial tissue by surface adhesion molecule interaction with the ECM. It is therefore possible that eosinophils are more adjusted to interact with ECM components, especially in chronic inflammation background cases, as displayed in this study by increased eosinophil adhesion to ECM, compared with adhesion to pulmonary structural cells.

Activated eosinophils may secrete proinflammatory mediators such as cytokines, chemokines, leukotrienes, matrix metalloproteinases and granule proteins [27], as well as bind to ASM cells and promote ASM to release cysteinyl leukotrienes, which in turn enhances nearby ASM proliferation. Eosinophils express seven integrins:  $\alpha 4\beta 1$ ,  $\alpha 4\beta 7$ ,  $\alpha 6\beta 1$ ,  $\alpha D\beta 2$ ,  $\alpha M\beta 2$ ,  $\alpha L\beta 2$ ,  $\alpha X\beta 2$  [28], which can mediate their adhesion to adhesion molecules VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) and ICAM-1 (intercellular Adhesion Molecule 1), but also to ECM proteins fibronectin through  $\alpha 4\beta 1$  and  $\alpha 4\beta 7$ ; laminin through  $\alpha 6\beta 1$  and vitronectin through  $\alpha M\beta 2$  [2]. One study conducted in 2013 showed that inhibition of eosinophil adhesion to ASM cells using specific antibodies against eosinophil adhesion receptors was associated with inhibition of ASM cell proliferation [29]. However, the ability of eosinophils to adhere to pulmonary structural cells secreted ECM has not been evaluated, which means eosinophils could degranulate to release the same compounds into the microenvironment and act on adjacent cells. Based on the results of the study, new ways could be found in the future to block certain eosinophil integrins responsible for adhesion to the ECM and to reduce the accumulation of eosinophils in the airways, thus inhibiting the development of airway remodeling during asthma.

Airway remodeling is a crucial feature of asthma which includes hypertrophy and hyperplasia of the ASM and adjustments in the ECM component profile around the ASM. In our previous publications it was found that eosinophils from AA patients' increased COL1A1 and FN gene expression in ASM cells [30]. During this study it was found that eosinophil-disrupted ECM production promoted new pulmonary structural cell proliferation. One possible mechanism could be enhanced production of eosinophils promoted pro-proliferative ECM components, such as collagen I and fibronectin [31], by pulmonary struc-

tural cells. Pulmonary structural cells secrete ECM to maintain their microenvironment, however during asthma, inflammation promotes eosinophil migration, accumulation and degranulation in the airways, which leads to subsequent ASM proliferation and ECM deposition. Further investigations should aim to confirm pro-proliferative ECM protein deposition after incubation with eosinophils via immunohistochemistry staining methods.

Although one of the major causes of airway remodeling is known to be hyperplasia and hypertrophy of ASM [5], and eosinophils may promote these processes [21]; however, not enough research has been done to evaluate the effects of ECM components on these processes. It has been discovered that ASM, derived from asthma patients, had increased collagen I, perlecan [32] and fibronectin [33] production. Such changes in the altered matrix could be able to feedback reverse signal to the cells in an autocrine manner within their environment to influence other cellular functions. Considering that the response of lung structural cells to changes in their surrounding ECM components may contribute to airway remodeling in asthma, in this study we focused on investigating potential effect of asthma patients' eosinophils on lung structural cell proliferation via autocrine ECM adjustment.

Cell proliferation is linked with a diverse set of pathways, which control differentiation, cell quiescence, senescence and responses to a variety of stresses [34]. A proposed primary mechanism to increased ASM mass is ASM cell proliferation, induced by various cytokines, growth factors, inflammatory mediators and allergens [35], and various amount of these mitogens can be found in blood serum. During the study it was found that patients' blood serum addition significantly promoted the proliferation of newly seeded ASM cells compared to control cells. Fully differentiated ASM cells can also produce various cytokines and growth factors such as IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, GM-CSF, eotaxins, platelet derived growth factor- $\beta$ , vascular endothelial growth factor into the airways [36] and further promote nearby cell proliferation and migration in a paracrine or autocrine manner. Regarding pulmonary fibroblasts, increased ECM production can be partly explained by the ability of eosinophils to secrete various cytokines, chemokines, and growth factors such as TGF- $\beta$ , which is an important factor in the differentiation of fibroblasts into myofibroblasts that actively produce ECM proteins [7, 37]. ECM proteins can also bind soluble growth factors and regulate their distribution, activation and presentation to cells [8]. It has been shown that eosinophils contribute to oxidative and nitrosative stress in mild asthma [38]. Eosinophil adhesion to ECM could cause local oxidative stress damage to surrounding ECM network and

release the bound growth factors into the microenvironment, affecting nearby pulmonary structural cells proliferation. Identification of pro-proliferative ECM components and their production-promoting factors may contribute to the reduction of asthma-induced airway remodeling processes.

Previous experiments utilizing commercial ECM components such as collagen and fibronectin, have indicated an increase in the proliferation of airway epithelial cells and lung fibroblasts on these protein matrices in a mouse model [39], but this method imprecisely recreates the human tissue. The location of the functional and structural components that make up the ECM has not been completely investigated; thus it is not yet possible to completely synthesize these matrices under laboratory conditions. Recently, decellularization procedures have become favored substitutes to tissue culture plate coating with ECM components because the aim of the decellularization method is to reduce any adverse effect on the arrangement, biological activity, and mechanical disorder of the remaining ECM after efficiently eliminating all cellular and nuclear materials [13, 23]. A new methodology was utilized in this study based on the feature of adhesive cells ability to produce ECM. The ECM matrices obtained during the experiments maintain crucial structural components, but may lack the related modulatory proteins or soluble components required to promote tissue-specific cellular functions. However, freshly seeded cells partially regenerate missing ECM components [40]. In addition, the  $\text{NH}_4\text{OH}$  used to remove the cell portion in the study may have cytotoxic effects on newly seeded cells, but this effect was reduced by washing the ECM components several times with warm PBS and further incubating tissue culture wells in PBS before seeding new cells.

## CONCLUSIONS

Eosinophils demonstrate enhanced adhesion to ECM components rather than to ASM cells or pulmonary fibroblasts, and adhesion further increases in asthma. Pulmonary structural cells promote their proliferation in autocrine manner via released ECM components after incubation with eosinophils in asthma. Based on the results of the study, new ways could be found in the future to block certain eosinophil integrins responsible for adhesion to the ECM components and to reduce the accumulation of eosinophils in the airways, thus inhibiting the development of airway remodeling during asthma. Finally, visualisation and identification of pro-proliferative ECM components and their production-promoting factors may contribute to the reduction of asthma-induced airway remodeling processes.

*Gauta 2022 08 24  
Priimta 2022 09 16*

## REFERENCES

1. **Fulkerson PC, Rothenberg ME.** Targeting eosinophils in allergy, inflammation and beyond. *Nat Rev Drug Discov.* 2013;12(2):117.
2. **Johansson MW, Mosher DF.** Integrin activation States and eosinophil recruitment in asthma. *Front Pharmacol.* 2013;4:33.
3. **Kostikas K, Brindicci C, Patalano F.** Blood Eosinophils as Biomarkers to Drive Treatment Choices in Asthma and COPD. *Curr Drug Targets.* 2018;19(16):1882.
4. **Esnault S, Kelly EA.** Essential Mechanisms of Differential Activation of Eosinophils by IL-3 Compared to GM-CSF and IL-5. *Crit Rev Immunol.* 2016;36(5):429.
5. **Fehrenbach H, Wagner C, Wegmann M.** Airway remodeling in asthma: what really matters. *Cell Tissue Res.* 2017;367(3):551.
6. **Liu G, Cooley MA, Nair PM, Donovan C, Hsu AC, Jarnicki AG, et al.** Airway remodelling and inflammation in asthma are dependent on the extracellular matrix protein fibulin-1c. *J Pathol.* 2017;243(4):510.
7. **Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaitė-Zukauske V, Bajoriuniene I, Malakauskas K.** In Vivo Allergen-Activated Eosinophils Promote Collagen I and Fibronectin Gene Expression in Airway Smooth Muscle Cells via TGF- $\beta$ 1 Signaling Pathway in Asthma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1837.
8. **Hynes RO.** The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science.* 2009;326(5957):1216.
9. **Robertson IB, Horiguchi M, Zilberberg L, Dabovic B, Hadjiolova K, Rifkin DB.** Latent TGF- $\beta$ -binding proteins. *Matrix Biol.* 2015;47:44.
10. **Karonen T, Jeskanen L, Keski-Oja J.** Transforming growth factor beta 1 and its latent form binding protein-1 associate with elastic fibres in human dermis: accumulation in actinic damage and absence in anetoderma. *Br J Dermatol.* 1997;137(1):51.
11. **Burgstaller G, Oehrlé B, Gerckens M, White ES, Schiller HB, Eickelberg O.** The instructive extracellular matrix of the lung: basic composition and alterations in chronic lung disease. *Eur Respir J.* 2017;50(1):1601805.
12. **Berair R, Hartley R, Mistry V, Sheshadri A, Gupta S, Singapuri A, et al.** Associations in asthma between quantitative computed tomography and bronchial biopsy-derived airway remodelling. *Eur Respir J.* 2017;49(5):1601507.
13. **Scherzer MT, Waigel S, Donniger H, Arumugam V, Zacharias W, Clark G, et al.** Fibroblast-Derived Extracellular Matrices: An Alternative Cell Culture System That Increases Metastatic Cellular Properties. *PLoS One.* 2015;10(9):e0138065.
14. **Danen EH, Sonnenberg A.** Integrins in regulation of tissue development and function. *J Pathol.* 2003;201(4):632.
15. **Sainio A, Järveläinen H.** Extracellular matrix-cell interactions: Focus on therapeutic applications. *Cell Signal.* 2020;66:109487.
16. **Johansson MW, Kelly EA, Busse WW, Jarjour NN, Mosher DF.** Up-regulation and activation of eosinophil integrins in blood and airway after segmental lung antigen challenge. *J Immunol.* 2008;180(11):7622.
17. **McBrien CN, Menzies-Gow A.** The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma. *Front Med (Lausanne).* 2017;4:93.
18. **Burgess JK, Mauad T, Tjin G, Karlsson JC, Westergren-Thorsson G.** The extracellular matrix - the under-recognized element in lung disease? *J Pathol.* 2016;240(4):397.
19. **Janulaityte I, Januskevicius A, Kalinauskaitė-Zukauske V, Palacionyte J, Malakauskas K.** Asthmatic Eosinophils Promote Contractility and Migration of Airway Smooth Muscle Cells and Pulmonary Fibroblasts In Vitro. *Cells.* 2021;10(6):1389.
20. **Michalik M, Wojcik-Pszczola K, Paw M, Wnuk D, Koczur kiewicz P, Sanak M, et al.** Fibroblast-to-myofibroblast transition in bronchial asthma. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(21):3943.
21. **Januskevicius A, Janulaityte I, Kalinauskaitė-Zukauske 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).
22. **Gosens R, Stelmack GL, Dueck G, McNeill KD, Yamasaki A, Gerthoffer WT, et al.** Role of caveolin-1 in p42/p44 MAP kinase activation and proliferation of human airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung cell.* 2006;291(3):L523.
23. **Hellewell AL, Rosini S, Adams JC.** A Rapid, Scalable Method for the Isolation, Functional Study, and Analysis of Cell-derived Extracellular Matrix. *J Vis Exp.* 2017(119).
24. **Mathur SK, Schwantes EA, Jarjour NN, Busse WW.** Age-

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

- related changes in eosinophil function in human subjects. *Chest*. 2008;133(2):412.
25. **Kalinauskaite-Zukauske V, Januskevicius A, Janulaityte I, Miliauskas S, Malakauskas K.** Expression of eosinophil  $\beta$  chain-signaling cytokines receptors, outer-membrane integrins, and type 2 inflammation biomarkers in severe non-allergic eosinophilic asthma. *BMC Pulm Med*. 2019;19(1):158.
  26. **Januskevicius A, Gosens R, Sakalauskas R, Vaitkiene S, Janulaityte I, Halayko AJ, et al.** Suppression of Eosinophil Integrins Prevents Remodeling of Airway Smooth Muscle in Asthma. *Front Physiol*. 2016;7:680.
  27. **Fettelet T, Gigon L, Karaulov A, Yousefi S, Simon H-U.** The Enigma of Eosinophil Degranulation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):7091.
  28. **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.
  29. **Halwani R, Vazquez-Tello A, Sumi Y, Pureza MA, Bahammam A, Al-Jahdali H, et al.** Eosinophils Induce Airway Smooth Muscle Cell Proliferation. *J Clin Immunol*. 2013;33(3):595.
  30. **Januskevicius A, Vaitkiene S, Gosens R, Janulaityte I, Hoppenot D, Sakalauskas R, et al.** Eosinophils enhance WNT-5a and TGF- $\beta$ 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.
  31. **Han SW, Roman J.** Fibronectin induces cell proliferation and inhibits apoptosis in human bronchial epithelial cells: pro-oncogenic effects mediated by PI3-kinase and NF-kappa B. *Oncogene*. 2006;25(31):4341.
  32. **Johnson PR, Burgess JK, Underwood PA, Au W, Poniris MH, Tamm M, et al.** Extracellular matrix proteins modulate asthmatic airway smooth muscle cell proliferation via an autocrine mechanism. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(4):690.
  33. **Araujo BB, Dolhnikoff M, Silva LFF, Elliot J, Lindeman JHN, Ferreira DS, et al.** Extracellular matrix components and regulators in the airway smooth muscle in asthma. *Eur Respir J*. 2008;32(1):61.
  34. **Duronio RJ, Xiong Y.** Signaling pathways that control cell proliferation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(3):a008904.
  35. **Al-Muhsen S, Johnson JR, Hamid Q.** Remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(3):451.
  36. **Samitas K, Carter A, Kariyawasam HH, Xanthou G.** Upper and lower airway remodelling mechanisms in asthma, allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: The one airway concept revisited. *Allergy*. 2018;73(5):993.
  37. **Bakakos A, Loukides S, Bakakos P.** Severe Eosinophilic Asthma. *J Clin Med*. 2019;8(9).
  38. **de Groot LES, Sabogal Piñeros YS, Bal SM, van de Pol MA, Hamann J, Sterk PJ, et al.** Do eosinophils contribute to oxidative stress in mild asthma? *Clin Exp Allergy*. 2019;49(6):929.
  39. **Royce SG, Tan L, Koek AA, Tang ML.** Effect of extracellular matrix composition on airway epithelial cell and fibroblast structure: implications for airway remodeling in asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009;102(3):238.
  40. **Chen Y, Chen J, Zhang Z, Lou K, Zhang Q, Wang S, et al.** Current advances in the development of natural meniscus scaffolds: innovative approaches to decellularization and recellularization. *Cell Tissue Res*. 2017;370(1):41.

# Alergija retiems ir egzotiniams gyvūnams

ALLERGY TO RARE AND EXOTIC PET ANIMALS

VILTĖ ŠAPRONAITĖ<sup>1</sup>, VIOLETA KVEDARIENĖ<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>VU Medicinos fakultetas, <sup>2</sup>VU MF Klinikinės medicinos instituto Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika, <sup>3</sup>VU MF Biomedicinos mokslų instituto Patologijos, teismo medicinos ir farmakologijos katedra

**Santrauka.** Kalbant apie alergijas gyvūnams, dažniausiai apsiribojama tik dviem tradiciniais augintiniais – šunimis ir katėmis. Visgi visos rūšys gali sukelti alergiją. Pastaraisiais dešimtmečiais vis daugiau žmonių laiko įvairių rūšių žinduolius, roplius ir paukščius namų aplinkoje, aprašoma daugiau alerginių reakcijų, kurias patiria šeimininkai. Dažniausiai pasireiškia kvėpavimo sistemos simptomai, o gyvūnų įkandimai gali sukelti anafilaksines reakcijas. Ekspozicija įkvepiamiems alergenams didina rinito, konjunktyvito ir astmos riziką. Dauguma alergenų priklauso lipokalinų, serumo albuminų ir sekretoglobulinų šeimoms. Serumo albuminai ir dalis lipokalinų pasižymi kryžminiu reaktyvumu. Sensitizuojantys baltymai nustatomi odos epitelyje, kailyje, šlapime, žvynuose, tačiau dauguma lieka nepatvirtinti arba nepakankamai aprašyti. Daugiausia tirti graužikų – jūrų kiaulyčių, pelių ir triušiu alergenai. Alergijos diagnozei nustatyti dėl mažo komercinių ekstraktų prieinamumo atliekami dūrio-dūrio mėginiai. Molekulinė komponentinė diagnostika lengvina alergijos gyvūnui nustatymą ir diferenciaciją tarp pirminio įsijautrinimo ir kryžminių reakcijų.

**Reikšminiai žodžiai:** alergija naminiams gyvūnams, egzotiniai gyvūnai, kryžminis reaktyvumas, lipokalinai, diagnostika.

**Summary.** Animal allergy discussion is often limited to two common pets. Nevertheless, all animal species can cause allergy. In the last decades, different animals, including small mammals, reptiles and birds are increasingly kept as pets. For this reason, allergic reactions to rarer animals are an emerging issue. Symptoms, as for cats and dogs, are mostly respiratory, and bites are associated with anaphylaxis. Exposure to inhalant allergens increases the risk of rhinitis, conjunctivitis and asthma. Most animal allergens belong to lipocalin, serum albumin and secretoglobulin families. Serum albumins and some lipocalins are cross-reactive. Sensitizing proteins are found in epithelium, dander, hair, urine, scales; however, the majority are not well characterized. Better studied allergens belong to rodents, such as guinea pig, mice and rabbits. Extracts for exotic animals are largely unavailable, and prick-to-prick testing is done. Component-resolved diagnosis is useful for pet allergy in differentiating genuine allergy from cross-reactivity.

**Keywords:** pet allergy, exotic animals, cross-reactivity, lipocalins, diagnosis.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1020>

## ĮVADAS

Alergija gyvūnams laikoma svarbiu rizikos veiksniu išsivystyti alerginiam rinitui ir astmai, o šios ligos susijusios su didele finansine našta ir daro neigiamą įtaką gyvenimo kokybei [1, 2]. Kaip vieni dažniausių patalpų alergenų, šunys ir katės pagrįstai sulaukia daugiausia dėmesio, tačiau pastaruoju metu vis daugiau asmenų įsigyja ir laiko netradicinius gyvūnus. Naminiams gyvūnams priklausančių žinduolių, paukščių, roplių, varliagyvių ir graužikų rūšių sąrašas nuolat auga [3–5]. Vis dėlto, namuose laikantys retesnius gyvūnus asmenys susiduria su įvairiais iššūkiais, tokiais kaip informacijos apie jų priežiūrą, specializuotos veterinarinės pagalbos trūkumas ir, galiausiai, žemas šeimininkų pasitenkinimas gyvūno laikymu [3, 6]. Be to, tai neišvengiamai lemia žmogaus ekspoziciją naujiems ir mažai tirtiems alergenams. Alergijos egzotiniams gyvūnams paplitimas kol kas nežinomas ir aprašomi daugiausia pavieniai alerginių reakcijų

atvejai. Vis dėlto, pastarųjų dešimtmečių mokslinių publikacijų skaičius didėja [4]. Nors atvejų kol kas nedaug, matoma didelė gyvūnų rūšių, sukėlusiu įvairaus sunkumo alerginės reakcijos atvejus, įvairovė. Visi gyvūnai gali sukelti alergiją. Alergija – tai patologinė organizmo reakcija į aplinkoje esančias įprastas medžiagas – reikalauja įsijautrinimo, t. y. specifinių imunoglobulinų E (sIgE) antikūnų gamybos prieš alergeną [7]. Alerginės reakcijos turi bendrų bruožų: dažniausiai gyvūnų alergenai yra oru plintantys, priklausantys kelioms ištirtoms alergenų šeimoms. Dažniausios šeimos – tai lipokalinai, sekretoglobulinai ir serumo albuminai (SA). Alerginė reakcija įvyksta įkvepiant, esant tiesioginiam kontaktui arba gyvūnui įkandus. Alerginių reakcijų klinika ta pati, kaip ir esant alergijai šuniui arba katei, dažnai pasireiškia viršutinių ir apatinių kvėpavimo takų simptomais [4, 5, 8]. Kadangi šios reakcijos alergenų komponentai yra reti, mažai ištirti ir specialistams mažai žinomi,

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

gali kilti daug diagnostinių iššūkių. Vis dėlto, alergijos retesniems prijaukintiems ir egzotiniams gyvūnams problema tampa aktuali, žinių daugėja ir diagnostika tobulėja, tad šio straipsnio tikslas – supažindinti su naujausia mokslinė literatūra šia tema.

## ŠIUOLAIKINIAI NAMINIAI GYVŪNAI – KAS JIE?

2020 m. europiečių namuose buvo laikoma virš 52 tūkst. naminių paukščių, beveik 30 tūkst. mažų žinduolių (neskaitant kačių ir šunų) ir virš 9 tūkst. roplių [9]. Nors nesama tikslų duomenų apie retesnių gyvūnų laikymą namuose Lietuvoje, tikėtina, egzistuoja panaši tendencija dažniau auginti smulkius prijaukintus žinduolius ir įvairius egzotinius gyvūnus. Svarstoma, jog tai gali būti susiję su dabar paprastesnėmis šių gyvūnų įsigijimo galimybėmis internetu ir žmonių gyvenimu mieste mažuose butuose, kuriuose dažnai negalima arba neįmanoma laikyti didelio gyvūno, šuns arba katės. Kartais manoma, jog nedidelis gyvūnas reikalaus mažiau priežiūros [3, 6]. Didžiausią namuose laikomų gyvūnų grupę sudaro žinduoliai [4]. Triušiai, jūrų kiaulytės, pelės jau yra gana įprasti europiečių namų gyventojai, tačiau alergologijoje jų sukeltos reakcijos lieka retos ir dažnai neįvertintos, nors keli šių žinduolių alergenų komponentai jau identifikuoti ir tiriama molekulinės diagnostikos tyrimais [10–12]. Rečiau laikomiems naminiams žinduoliams, kuriems buvo nustatyta alergijos atvejų, priklauso šinšila, šeškas, Mongolijos smiltpelė, ežys, net namuose auginami kiškis ir beždžionė. Statistika rodo, jog paukščiai taip pat tapo mėgstamu neįprastu augintiniu. Namuose laikomi alerginius, dažniausiai kvėpavimo, simptomus provokuojantys paukščiai yra agaporniai, nimfinė papūgėlė, fazanas, kanarėlė, papūga, žąsis ir pelėda [4]. Esama ir egzotinių gyvūnų sukeltos alergijos atvejų. Anksčiau dauguma Europos gyventojų galėjo turėti kontaktą su ropliais tik zoologijos soduose, tačiau auga ir šių rūšių, laikomų namuose, skaičius. Jie aktyviai importuojami į žemyną, nors laikymas reikalauja itin specializuotos priežiūros ir kelia rimtas su gyvūnų laikymo etika susijusias problemas, nes net 75 proc. jų miršta per pirmuosius metus [3, 13]. Dažniausiai tai iguanos, driežai, chameolonai (1 pav.) arba įvairios gyvatės. Jie, be zoonozių (pvz., salmoneliozės) pernešimo, gali sukelti ir alergines reakcijas [3, 4]. Nustatytos kvėpavimo sistemos alergijos iguanos, driežo oro alergenams. Be to, galimi įkandimai, kurie sukelia alerginę odos reakciją arba anafilaksiją. Tai susiję iš dalies su žinių apie priežiūrą trūkumu [4]. Nariuotakojai, pvz., tarakonai arba voragyviai, taip pat tampa pripažįstami kaip naminiai gyvūnai [3] ir juos galima įsigyti Lietuvoje. Tačiau egzotinių gyvūnų sukeltos alerginės reakcijos tirtos labai mažai.

Minėti gyvūnai neapima visų namuose laikomų



1 pav. Lietuvių namuose laikomas šalmagalvis chameolonas (*Chamaeleo calyptratus*). Gautas leidimas naudoti nuotrauką

rūšių, tačiau aprašyta bent keletas alerginių reakcijų atvejų dažniausiems netradiciniams augintiniams. Tikėtina, jog naminių gyvūnų skaičius ir rūšių spektras augs, nors siekiama griežtesnio laukinių gyvūnų importavimo ir laikymo reguliavimo Europoje [3].

Alergijos gyvūnams šaltinis ne visada yra augintinio plaukas. Daugiausia alergenų turi pleiskanos, taip pat jų yra gyvūnų seilėse ir šlapime. Dėl šios priežasties nėra gyvūnų rūšies arba veislės, kuriai žmogui negali išsivysti alergija. Mažos odos dalelės gali likti ore ilgą laiką ir įkvėpus sukelti nosies, akių ir kvėpavimo takų simptomus net gyvūnui nesant kambaryje [4, 5, 8]. Iškritę plaukai nusėda ant grindų, todėl paprastai jų alergenai sunkiau patenka į kvėpavimo takus [4]. Dygliuoti ir žvynuoti gyvūnai taip pat gali sukelti alergiją. Pavyzdžiui, Afrikos ežiukų IgE sujungiamieji baltymai randami pleiskanose, dygliuose [14] ir išmatose [15]. IgE sujungiamieji baltymai buvo išskirti ir iš iguanos raginių žvynų [16]. Kartais alergija gali būti sukelta ne gyvūno baltymo, o jam duodamo maisto – sėklų, riešutų, žuvies arba krevėčių [5]. Daugumos egzotinių gyvūnų alergenų molekuliniai komponentai kol kas lieka nenustatyti.

## KLINIKINIAI SUKELIAMŲ ALERGINIŲ REAKCIJŲ SIMPTOMAI

Klinikiniai namie laikomų retesnių gyvūnų sukeltų alerginių reakcijų simptomai yra panašūs į katės ir

**1 lentelė. Lietuvos Respublikos teritorijoje leidžiamų laikyti ir (arba) veisti nelaisvėje laukinių gyvūnų rūšių sąrašas**

Eil. Nr.	Rūšies arba genties lietuviškas pavadinimas	Rūšies arba genties lotyniškas pavadinimas
1	Dygliuotosios pelės	<i>Acomys sp.</i>
2	Smiltpelės iš <i>Gerbillus</i> genties	<i>Gerbillus sp.</i>
3	Smiltpelės iš <i>Meriones</i> genties	<i>Meriones sp.</i>
4	Nilinė žolpelė	<i>Arvicanthis niloticus</i>
5	Neumano žolpelė	<i>Arvicanthis neumanni</i>
6	Pelė mažylė	<i>Micromys minutus</i>
7	Nykštukinė naminė pelė	<i>Mus minutoides</i>
8	Plačiakaplės žiurkės (Natalinė pelė)	<i>Mastomys natalensis</i>
9	Juodoji (naminė) žiurkė	<i>Rattus rattus</i>
10	Sirinis žiurkėnas	<i>Mesocricetus auratus</i>
11	Nykštukiniai Kembelo (Rusijos) žiurkėnai	<i>Phodopus campbelli</i>
12	Roborovskio žiurkėnukas	<i>Phodopus roborovskii</i>
13	Džiungarijos žiurkėnas	<i>Phodopus sungorus</i>
14	Daūrinis žiurkėnukas	<i>Crucetulus barbarensis</i>
15	Šinšila	<i>Chinchilla sp.</i>
16	Gambinė žiurkėžiurkė	<i>Cricetomys gambianus</i>
17	Paprastoji afrikinė miegapelė <sup>1</sup>	<i>Graphiurus murinus</i>
18	Degu	<i>Ovtodon degus</i>
19	Nykštukinė voverinė skraiduolė <sup>1</sup>	<i>Petarus breviceps</i>
20	Keturpirštis (afrikinis) ežys <sup>1</sup>	<i>Atelerix albiventris</i>
21	Patagoninė mara <sup>1,2</sup>	<i>Dolichotis patagonium</i>
22	Bizonas <sup>2</sup>	<i>Bison bison</i>
23	Stumbras <sup>2</sup>	<i>Bison bonasus</i>
24	Alpinis ožys <sup>2</sup>	<i>Capra ibex</i>
25	Sibirinis kalninis ožys <sup>2</sup>	<i>Capra sibirica</i>
26	Stirna <sup>2</sup>	<i>Capreolus capreolus</i>
27	Danielius <sup>2</sup>	<i>Cervus dama</i>
28	Taurusis elnias <sup>2</sup>	<i>Cervus elaphus</i>
29	Dėmėtas elnias <sup>2</sup>	<i>Cervus nippon</i>
30	Dovydo elnias <sup>2</sup>	<i>Elaphurus davidianus</i>
31	Guanakas <sup>2</sup>	<i>Lama guanicoe</i>
32	Vikunija <sup>2</sup>	<i>Vicugna vicugna</i>
33	Kalninis avinas <sup>2</sup>	<i>Ovis amman</i>
34	Muflonas <sup>2</sup>	<i>Ovis orientalis</i>
35	Šernas <sup>2,3</sup>	<i>Sus scrofa</i>

1 – leidžiama laikyti ir veisti iki 2024 m. gegužės 1 d.

2 – privalo gauti leidimą laikyti nelaisvėje laukinius gyvūnus vadovaujantis Aplinkos ministro ir Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos 2011-06-30 įsakymu Nr. D1-533/B1-310 „Dėl Laukinių gyvūnų naudojimo taisyklių patvirtinimo“.

3 – galima laikyti atsižvelgiant į Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos reikalavimus dėl kiaulių maro.

šuns sukeltos alergijos simptomus. Dominuoja viršutinių ir apatinių kvėpavimo takų simptomai – rinitas, konjunktyvitas, astma. Skundžiamasi čiauduliu, sloga, kosuliu arba dusulio priepuoliais. Tai būdinga tiek žinduolių, tiek roplių arba paukščių sukeltoms alerginėms reakcijoms [4, 5, 17]. Anafilaksinės reakcijos dažnesnės po gyvūno įkandimo. Jos nustatomos, pvz., įkandus žiurkėnui, pelei, driežui ir karališkajai kobrai. Kadangi

**2 lentelė. Domestikuotų gyvūnų sąrašas**

Eil. Nr.	Lietuviškas pavadinimas	Lotyniškas pavadinimas
1	Šuo	<i>Canis familiaris</i>
2	Katė	<i>Felis catus</i>
3	Šiaurinis elnias	<i>Rangifer tarandus</i>
4	Galvijas (naminis jautis, karvė)	<i>Bos taurus</i>
5	Azijinis (vandeninis) buivolas	<i>Bubalus bubalis</i>
6	Kupranugaris	<i>Camelus sp.</i>
7	Alpaka	<i>Vicugna pacos</i>
8	Lama	<i>Lama glama</i>
9	Naminė ožka	<i>Capra aegagrus hircus</i>
10	Afrikinis asilas	<i>Equus asinus</i>
11	Pilkoji žiurkė	<i>Rattus norvegicus domesticus</i>
12	Naminė pelė	<i>Mus musculus domestica</i>
13	Jūrų kiaulytė	<i>Cavia porcellus</i>
14	Naminis triušis	<i>Oryctolagus cuniculus domesticus</i>
15	Naminis šeškas	<i>Mustela furo</i>
16	Naminis arklys	<i>Equus caballus</i>
17	Naminė kiaulė	<i>Sus scrofa domesticus</i>
18	Zebu	<i>Bos indicus</i>
19	Naminis jakas	<i>Bos grunniens</i>
20	Gajalas	<i>Bos frontalis</i>
21	Bantengas	<i>Bos javanicus</i>
22	Naminė avis	<i>Ovis aries</i>

jų klinika panaši į toksinių, sukeltų gyvačių, driežų ir vorų įgėlimo, reikalinga išsamesnė diferencinė diagnostika. Kontaktinės odos reakcijos retos, jos taip pat dažniau pasireiškia po įkandimo. Dilgėlinė yra aprašyta įkandus Mongolijos smiltpelei, žiurkėnui [4]. Egzogeninis alerginis alveolitas gali būti naminių paukščių, pvz., agapornų, alergijos išraiška [18].

Esant alergijai naminiam paukščiui (pvz., banguotosioms kanarėlėms, papūgėlėms) gali įvykti kryžminė reakcija ir išsivystyti paukščio-kiaušinio klinikinis sindromas [19]. Pirminis įsijautrinimas šiuo atveju yra paukščių serumo albuminams, esantiems plunksnose, serume arba išmatose. Iš pradžių būdingi tipiniai respiraciniai simptomai, tačiau dėl kryžminės reakcijos tarp šių alergenų ir vištos SA Gal d 5 (α-livetino) išsivysto antrinė alergija vištos kiaušinio tryniui. Tokiu atveju, vartojant kiaušinį, būdingiausi virškinamojo trakto simptomai, kartais – kvėpavimo sistemos ir odos. Simptomai ryškesni valgant žalią arba minkštai virtą kiaušinį [20]. Šis sindromas iliustruoja galimą gyvūnų alergijų sąsają su maisto alergijomis ir yra analogiškas kiek dažnesniam katės-kiaulienos



# Moksliniai darbai ir apžvalgos

sindromui (KKS). KKS nustatomas katės Fel d 2 sensibilizuotiems pacientams, įvykus kryžminei reakcijai su kiaulės Sus s 1. Simptomai tipiški greitojo tipo alerginėms reakcijoms ir ryškesni valgant mažai termiškai apdorotą kiaulieną [21].

## PAGRINDINIAI ĮKVEPIAMIEJI ALERGENŲ KOMPONENTAI

Tik nedaugelio gyvūnų alergenai komponentai yra identifikuoti ir visiškai ištirti. Tarptautinio alergenų nomenklatūros subkomiteto patvirtinti naminių gyvūnų (išskyrus šunis ir kates) įkvepiamieji alergenų komponentai pateikiami 3 lentelėje. Daugiausia ištirti graužikų ir kitų smulkių laboratorinių ir prijaukintų žinduolių alergenai. Šie alergenai paplitę ir dažnai sukelia alergines reakcijas [22]. Molekulinė masė svyruoja nuo 8 kDa iki daugiau nei 80 kDa. Pagrindiniai pelių (Mus m 1), žiurkių (Rat n 1) ir jūrų kiaulyčių (Cav p 2, Cav p 3) alergenai patvirtinti, tačiau komponentai retai naudojami diagnostikai [4]. Triušių alergenai nėra išsamiai aprašyti, tačiau plaukuose, pleiskanose ir šlapime yra jau nustatyta mažiausiai keturi glikoproteinai – Ory c 1, Ory c 2, Ory c 4 (lipokalinai) ir Ory c 3 (sekretoglobinas) [5, 23, 24]. Diagnostikai naudojami jų ekstraktai.

Alergija kiaulei tradiciškai tirta kaip maisto arba profesinė alergija, tačiau dabar mažos kiaulės kartais auginamos kaip naminiai gyvūnai. Aprašyta daugiau nei 10 alergenų, siejamų su alergija kiaulei jas prižiūrintiems asmenims. Daugiausia tai lipokalinai ir albuminai [4]. Patvirtintas alergenai Sus s 1 yra serumo albuminas ir siejamas su alergija kiaulienai.

Nors aprašyta egzotinių gyvūnų sukiamų alergijos atvejų, jų alergenai nenustatyti. Roplių IgE sujungiamieji baltymai rasti nuoduose, šlapime ir epitelinėse ląstelėse, tačiau neidentifikuoti, o paukščių baltymai paprastai aprašomi esant maisto alergijai [4, 5].

## Pagrindinių žinduolių alergenų įkvepiamųjų komponentų klasifikacija

Klasifikacija remiasi baltymine alergeno struktūra, tad jie skirstomi į penkias grupes [25]:

- Lipokalinai
- Sekretoglobina
- Serumo albuminai
- Kalikreina
- Laterinai

Absoliuti dauguma gyvūnų alergenų priklauso trims baltymų šeimoms:

### Lipokalinai

Apie 50 proc. žinomų gyvūnų alergenų yra lipokalinai. Lipokalinai sudaro didelę šeimą. Tai maži ekstrakteliniai baltymai, daugiausia gaminami kepenų ir sekrecinių liaukų. Jų pagrindinė funkcija yra mažų hidrofobinių ligandų (vitaminų, feromonų) transportas

organizme. Šios šeimos alergenų yra gyvūnų seilėse, šlapime. Jie lengvai platinami patalpų ore [4, 5, 26]. Bendras identiškumas tarp lipokalinų yra 20–30 proc. [4], tačiau kai kurių yra gerokai didesnis. Lipokalinų kryžminis reaktyvumas mažai tirtas, bet manoma, kad bent dalis jų reaguoja kryžmiškai tarp žinduolių rūšių [27, 28]. Nustatytas kryžminis reaktyvumas tarp šuns (Can f 6), katės (Fel d 4) ir arklio (Equ c 1), pelės (Mus m 1) ir žiurkės (Rat n 1), arklio (Equ c 1) ir pelės (Mus m 1), katės (Fel d 7) ir šuns (Can f 1). Lipokalinų alergenų baltymų seka Equ c 1, Fel d 4, Can f 6 ir Mus m 1 yra 47–69 proc. vienoda [25]. Žiurkės alergeno komponentas Rat n 1 turi 52 proc. identišką struktūrą Equ c 1, Can f 6, Fel d 4, ir Mus m 1 alergenams [27].

### Serumo albuminai

Serumo albuminai yra daugiaviečiai baltymai stuburinių gyvūnų organizme, sudarantys didžiausią plazmos baltymų dalį. Gyvūno organizme jie svarbūs onkotinio slėgio palaikymui, taip pat steroidinių hormonų, riebalų rūgščių ir kitų medžiagų transportui. Albuminai randami gyvūno kūno skysčiuose (seilėse, kraujyje, piene), mėsoje ir odos epitelyje. 20–30 proc. alergiją gyvūnui turinčių asmenų yra išsijautrinę SA. Monosensibilizacija SA reta ir sensibilizacija gali įvykti tiek oro, tiek alimentiniu keliu [4]. Serumo albuminai išlaiko didelį homologiškumą tarp skirtingų gyvūnų, todėl pasižymi dideliu kryžminiu reaktyvumu [29]. Esant jautrumui serumo albuminams, asmuo gali kryžmiškai reaguoti įvairių gyvūnų plaukams dėl didelio baltymų sekos tapatumo tarp žinduolių (iki 82 proc.). Pavyzdžiui, katės-kiaulienos sindromas: daugiau kaip pusė turi sIgE katei (Fel d 2) ir kiaulienai (Sus s 1). Dėl kryžminių reakcijų serumo albuminui alergiški SA vaikai turi didesnę riziką būti alergiški gyvūnų plaukams ir sirgti astma, alergine sloga [25].

### Sekretoglobina

Šiai grupei priklauso du žinduolių alergenai: svarbiausias alergijos katei komponentas Fel d 1 ir neseniai aprašytas triušio baltymas Ory c 3. Sekretoglobina gaminami riebalinėse, prakaito ir ašarų liaukose. Katės išdziūvusios seilės ir pleiskanos perduodamos nuo kailio į aplinką kaip smulkios dalelės, kurios išlieka ore gana ilgą laiką. Fel d 1 daugiausia gaminamas riebalinėse ir seilių liaukose ir pernešamas ant plaukų gyvūnams prausiantis. Fel d 1 yra svarbiausias kačių alergijos komponentas, kuris reaguoja su IgE 90 proc. katėms jautrių asmenų ir sudaro iki 90 proc. IgE reaktyvumo kačių pleiskanoms [25]. Nors Fel d 1 ir Ory c 3 turi didelį homologiškumą, kryžminio reaktyvumo nenustatyta [24]. Sekretoglobinių biologinė funkcija nežinoma [4, 5]

### Kiti baltymai

Kitų baltymų šeimų alergenų komponentai – laterinai ir kalikreina – yra žymiai retesni tarp naminių gyvūnų

alergenų. Geriau ištirtas Can f 5 yra kol kas vienintelis kalikreinių šeimos alergenai, esantis šunų patinų prostatose [30]. Kitų gyvūnų molekuliniai alergenų komponentų yra kazeinų, imunoglobulinų, laterinų, transferinų, cistatinų baltymų šeimose [4, 5]. Šie baltymai turi mažesnę reikšmę naminių gyvūnų sukeliamai alergijai.

## RETESNI NAMINIAI GYVŪNAI, JŲ SUKELIAMOS ALERGINĖS REAKCIJOS IR DIAGNOSTIKOS SAVITUMAI

### Triušis

Triušiai (*Oryctolagus cuniculus*) (2 pav.), tradiciškai auginti kailiui ir mėsai, tapo trečiais dažniausiai namuose auginamais žinduoliais po kačių ir šunų. Jie sudaro apie 1,5–3 proc. Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) ir Europos naminių gyvūnų [23]. Triušio alergenai randami kailyje, seilėse ir šlapime. Trys iš keturių charakterizuotų triušio alergenų komponentų – lipokalinai (Ory c 1, Ory c 2, Ory c 4) [24, 31]. Ory c 3 yra sekretoglobinas, turintis didelį homologiškumą katės Fel d 1, tačiau kryžmiškai su juo nereaguojantis. Alergiškų triušiu pacientų grupėje 77 proc. turėjo padidėjusį IgE prieš Ory c 3 [24]. Aprašyta astmos, rinito, konjunktyvito atvejų sensibilizuotiems pacientams [5]. Nustatytas anafilaksijos atvejis atopiškam vaikui po kontakto su triušiu. Atliktas odos dūrio mėginys buvo teigiamas triušio epiteliui ir rasta padidėjusios IgE reikšmės triušio epiteliui ir kailiui, tačiau ne serumui [10]. Šiuo metu nėra natūralių arba rekombinantinių triušio alergenų ekstraktų, kurie leistų tirti specifinę sensibilizaciją dūrio mėginiais arba

**3 lentelė. Pasaulio sveikatos organizacijos ir Tarptautinio alergenų nomenklatūros subkomiteto patvirtinti naminių gyvūnų (neįtraukiant šuns ir katės) įkvepiamieji alergenų komponentai (www.allergen.org)**

Alergenas	Baltymų šeima	Molekulinė masė
<b><i>Cavia porcellus</i> (Jūrų kiaulytė)</b>		
Cav p 1	Lipokalinai	20 kDa
Cav p 2	Lipokalinai	17 kDa
Cav p 3	Lipokalinai	18 kDa
Cav p 4	Serumo albuminas	66 kDa
Cav p 6	Lipokalinai	18 kDa
<b><i>Mesocricetus auratus</i> (Sirinis žiurkėnas)</b>		
Mes a 1	Lipokalinai	~ 20,5 kDa, ~ 24 kDa, ~ 30 kDa – natyvinėje formoje ir ~ 22 kDa rekombinantinėje formoje
<b><i>Mus musculus</i> (Naminė pelė)</b>		
Mus m 1	Lipokalinai	17 kDa
<b><i>Oryctolagus cuniculus</i> (Naminis triušis)</b>		
Ory c 1	Lipokalinai	17–18 kDa
Ory c 2	Lipokalinai	18–22 kDa
Ory c 3	Lipofilinas	19–21 kDa (glikozilintas heterodimeras), 12–14 kDa (deglikozilintas heterodimeras)
Ory c 4	Lipokalinai	24 kDa
<b><i>Phodopus sungorus</i> (Džiungarijos žiurkėnas)</b>		
Phod s 1	Lipokalinai	23 kDa
<b><i>Rattus norvegicus</i> (Naminė žiurkė)</b>		
Rat n 1	Lipokalinai	17 kDa
<b><i>Sus scrofa</i> (Naminė kiaulė)</b>		
Sus s 1	Serumo albuminas	60 kDa

*in vitro*, o gyvūno ekstraktai (kuriuose yra potencialiai kryžmiškai reaguojančių serumo albuminų ir lipokalinų) neleidžia diferencijuoti tarp pirminės alergijos ir IgE kryžminio reaktyvumo. Sensibilizacija mažiems istoriškai prijaukintiems žinduoliams nepakankamai



2 pav. Namuose laikomas triušis. Gautas leidimas naudoti nuotrauką



3 pav. Namuose laikoma amerikietiškoji jūrų kiaulytė. Gautas leidimas naudoti nuotrauką

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

įvertinama iš dalies dėl specifinių komponentų trūkumo diagnostikai [24].

## Jūrų kiaulytė

Jūrų kiaulytės (*Cavia porcellus*) (3 pav.) alergenai randami seilėse, šlapime ir ant kailio [5]. Svarbūs alergenai yra lipokalinai Cav p 2 ir Cav p 3. IgE prieš juos randami atitinkamai 65 proc. ir 54 proc. jūrų kiaulytei alergiškų pacientų. 17 kDa masės Cav p 2 ekspresuojamas Harderio liaukoje, 19 kDa Cav p 3 – submaksiliarinėje liaukoje [32]. Nustatyta, jog naujai aprašytam lipokalinui Cav p 1 sIgE turi didžioji dauguma (83 proc.) alergiškų jūrų kiaulytei asmenų. Cav p 1, Cav p 2 ir Cav p 3 nepasižymi kryžminiu reaktyvumu ir, atrodo, yra rūšiai specifiški alergenai. Tačiau kitas lipokalinas Cav p 6 turi 54 proc. bendros sekos su katės Fel d 4 ir šuns Can f 6 ir pasižymi kryžminiu reaktyvumu. Serumo albuminas Cav p 4 taip pat yra kryžmiškai reaguojantis. Tiriant grupę pacientų, alergiškų katei ir šuniui, nustatyta, jog 73 proc. jų kartu turi sIgE jūrų kiaulytės pleiskanoms, tačiau tik 27 proc. turi sIgE kryžmiškai nereaguojantiems Cav p 1, Cav p 2 ir Cav p 3 [33]. Akivaizdu, jog reikalingi specifiniai alergenų markeriai tiksliai diagnozei, ypač polisensibilizuotiems pacientams, turintiems alergiją ir tradiciniams naminiams gyvūnams. Alergija jūrų kiaulytei daugiausia nustatoma laboratorijų darbuotojams ir pasireiškia rinitu, konjunktyvitu ir astma. Sunkios reakcijos yra retos, tačiau Zacharisen su bendraautoriais aprašė du sunkius neprofesinius alergijos jūrų kiaulytei atvejus. 11 metų pacientei netrukus po kontakto su jūrų kiaulyte pasireiškė slogos, veido dilgėlinės, periorbitalinės angioedemos, galiausiai laringinės edemos ir dusulio simptomai. Pacientė neigė buvus alerginių reakcijų po kontakto su kate ir šuniu. Kitai 24 metų pacientei išsivystė izoliuota gerklų edema po jūrų kiaulytės narvo valymo. Ši pacientė kelis metus sirgo katės alergijos sukeltu rinitu ir konjunktyvitu [12].

## Naminė pelė ir žiurkė

Didysis naminės pelės (*Mus musculus*) alergenai Mus m 1 yra lipokalinai, sekretuojamas su šlapimu. Kadangi tai feromonas pernešamasis baltymas, jis randamas žymiai didesniais kiekiais vyriškosios lyties pelėse. Kitas alergenai Mus m 2 daugiausia randamas plaukuose ir pleiskanose. Rastas didelis Mus m 1 paplitimas JAV miestų būstuose, kuris nesusijęs su pelės kaip naminio gyvūno laikymu. Ekspozicija Mus m 1 susijusi su vaikų astmos simptomų išsivystymu, paūmėjimais ir susilpnėjusia plaučių funkcija. Katės laikymas namuose susijęs su mažesne pelės alergeno ekspozicija, tačiau dauguma vaikų, sergančių astma ir turinčių hiperjautrumą pelei, turi jautrumą ir katei, todėl įsigyti katę nerekomenduojama [34].

Žiurkės (*Rattus norvegicus*) Rat n 1 taip pat yra

lipokalinai, pernešantis feromonus ir šalinamas su šlapimu. Jis turi didelį (52 proc.) homologiškumą Mus m 1 ir keliems kitiems žinduolių alergenams [28]. Šis alergenai mažiau tirtas nei pelės, tačiau randamas trečdalyje dulkių mėginių iš miestų gyvenviečių ir taip pat susijęs su vaikų astmos simptomais [35]. Vis dėlto, šie graužikai ne visada yra nepageidaujami miestų gyventojai, kartais jie auginami kaip naminiai gyvūnai. Anafilaksija nustatyta devynerių metų mergaitei po naminės pelės įkandimo žaidžiant su ja. Praėjus 30 min. pasireiškė odos paraudimas su generalizuotu niežuliu, dusulys. Vėliau jai nustatyta sensibilizacija šuniui, katei, arkliai ir pelei [36]. Alerginės reakcijos žiurkėms vis dar stipriai susijusios su darbu laboratorijoje. Dauguma atvejų laboratorijų darbuotojams pasireiškia rinokonjunktyvitas, tačiau po žiurkių įkandimų galima anafilaksija. Aprašyta sunki alerginė reakcija darbuotojai praėjus 5 min. po žiurkės įkandimo [37]. Abiejų šių gyvūnų alergenams būdinga kosensibilizacija dėl lipokalinų kryžminio reaktyvumo.

## Šinšilos

Šinšilos (*Chinchilla chinchilla et Chinchilla lanigera*) yra dviejų rūšių graužikai, laisvėje paplitę Pietų Amerikos pietinėje dalyje. Veisiamos šinšilos vertinamos dėl švelnaus tankaus kailio ir naudojamos kai kuriems laboratoriniams eksperimentams, todėl dažniausiai vis dar laikomos profesinės alergijos kvėpavimo sistemos alergijos šaltiniu [38, 39]. Vis dėlto, nustatyti keli alerginių reakcijų atvejai, kuriuos sukėlė naminė šinšila. Aprašyti intensyvaus rinito simptomai pacientei po kelių mėnesių nuo šinšilos įsigijimo. Nustatyta keletas IgE sujungiamųjų 22, 20 ir 18 kDa masės baltymų šinšilos šlapime ir epitelio ekstrakto, kurie tikriausiai atitinka lipokalinus ir gali būti kryžmiškai reaktyvūs Mongolijos smiltpelei ir jūrų kiaulytei [39]. Kitu atveju pacientei pasireiškė dilgėlinė, rinokonjunktyvitas ir astma po kontakto su namine vyriškosios lyties šinšila. Odos dūrio mėginiai buvo teigiami tik šinšilai ir alergijos priežastimi taip pat buvo laikomas lipokalinai. Graužikų (pelės, žiurkės, šinšilos) patinai yra potencialiai stipresni alergenų šaltiniai, nes išskiriamų pernešančių feromonų lipokalinų kiekis šlapime yra šešis kartus didesnis [4] nei graužikų patelių šlapime.

## Egzotiniai gyvūnai

Nors pavieniai atvejai aprašomi, alergijos daugumai egzotinių gyvūnų lieka mažai ištirtos. Dažniausiai namuose laikomų ežių rūšies, keturpirščio (afrikinio) ežio (*Atelerix albiventris*) sukeliama reakcija išsiskiria, nes linkusi pasireikšti dilgėlinė po kontakto su jo spygliais, tačiau tie patys alergenai gali sukelti ir astmą [40, 41]. Dažnai alergijos gyvūnams įtariamas apsiriboja plaukuotais žinduoliais. Tačiau roplių žvynuose taip pat randama alergenų. Dokumentuota

rinito, konjunktyvito, astmos simptomų atvejai, sukelti alergijos naminei iguanai (*Iguana iguana*) [42, 43]. Odos dūrio mėginiai buvo atlikti su pačios laikomos iguanos žvynais, tačiau vienu atveju paruošti ekstraktai ir iš kelių zoologijos sodo roplių [42]. Aprašytas bent vienas alergijos šalmagalviame chameleonui (*Chamaeleo calyptrotus*) atvejis. Pacientui pasireiškė lokalus niežulys, dilgėlinė ir paraudimas po kontakto su naminio chameleono nagais [17]. Madagaskaro šnypščiantieji tarakonai (*Gromphadorhina portentosa*) užauga iki 10 cm ir laikomi iš dalies dėl paprastų priežiūros sąlygų: maitinami augaliniu maistu arba maisto atliekomis, gali gyventi ir vidutinėje temperatūroje. Asmens, sensibilizuoto Madagaskaro tarakono alergenu, serume buvo cirkuliuojamojo IgE, kuris prisijungė prie visų keturių tarakonų rūšių ekstraktų baltymų. 8 iš 15 naminiam prūsokui (*Blattella germanica*) jautrių pacientų turėjo IgE, kuris susijungė su baltymais, esančiais iš *G. portentosa* paruoštuose ekstraktuose. Autorių manymu, galimos alerginės reakcijos Madagaskaro šnypščiančiajam tarakonui žmonėms, kurie alergiški kitiems tarakonams [17, 44]. Be aprašytų gyvūnų, nustatyti panašūs klinikiniai atvejai kitiems egzotiniams gyvūnams – kiškiams, driežams ir smiltpelėms [45–47], tačiau dėl jų retumo trūksta duomenų apie išskirtinumą ir atsakingus alergenus.

## DIAGNOSTIKA

Klinikinėje praktikoje alergija gyvūnui nustatoma remiantis paciento anamneze, odos dūrio mėginiais ir (arba) sIgE reikšmėmis, taikant molekulinę komponentinę diagnostiką [5, 48]. Įtarimą gyvūno sukeltai alergijai turėtų kelti pasikartojančios reakcijos po kontakto su juo. Aprašyti atvejai rodo, jog sensibilizacija gali išsivystyti greitai arba praėjus ilgam laikui nuo kontakto pradžios. Simptomų sunkumas varijuoja, tačiau anafilaksinės reakcijos dažniausiai susijusios su įkandimais – tiek graužikų, tiek roplių. Dalyje nagrinėtų atvejų buvo aprašyta kartu esanti alergija katei arba šuniui, bet ne visais atvejais jie yra pagrindinė alergijos priežastis. Visi laikomi naminiai gyvūnai gali būti alerginio rinito ir astmos priežastimi, todėl svarbu žinoti visus paciento laikomus gyvūnus.

Objektyvi diagnostika sudėtinga, ypač egzotiniams gyvūnams, nes daugumai nėra komercinių ekstraktų. Tarp 18 rekomenduojamų alergenu ekstraktų testavimui Europoje nėra retų gyvūnų diagnostinių alergenu ekstraktų [48]. Be to, net turimi ekstraktai dažnai heterogeniški savo alergenu sudėtimi, todėl lemia per dažnus klaidingai teigiamus arba neigiamus rezultatus dėl prasto jų standartizavimo [49]. Patvirtinti egzotinio gyvūno, pvz., iguanos, alergijos diagnozei daromi nestandardizuoti dūrio-dūrio mėginiai. Kita tikslaus diagnozavimo problema gali būti kryžminis reaktyvumas albuminų (Fel d 2, Can f 3, Equ c 3) ir

lipokalinų (Fel d 4, Can f 6, Equ c 1, Rat n 1) šeimoje. Dėl šios priežasties svarbu ištirti ir atskirti rūšiai specifiskus ir kryžmiškai reaguojančius alergenus. Tinkamas pirminės alergijos sukėlėjo nustatymas leis parinkti tikslią alergenu specifinę imunoterapiją [5]. Šiuo metu geriausia pasikartojančios alerginės reakcijos egzotiniame gyvūnui prevencija išlieka alergenu, t. y. pačio gyvūno, vengimas [4].

## IŠVADOS

Laikomų namuose gyvūnų rūšių skaičius didėja greičiau nei standartizuojamos alergenu tyrimų metodikos. Šiame straipsnyje apžvelgta esama informacija apie netradicinių gyvūnų laikymą, dažniausias klinikines alergijos formas, pagrindinius gyvūnus ir patvirtintus naujus tyrimus jų sukeliamai alergijai nustatyti. Dominuoja kvėpavimo sistemos simptomai ir smulkių žinduolių sukeltos reakcijos, tačiau aprašoma atvejų ir labai retiems naminiams gyvūnams, įrodoma alergija iguanai arba Madagaskaro tarakonams. Nors alergijas sukeliančių gyvūnų įvairovė didelė, dauguma jų alergenu priklauso kelioms šeimoms. Serumo albuminai ir dalis lipokalinų pasižymi kryžminiu reaktyvumu, todėl tiksliausia yra molekulinė komponentinė diagnostika. Sukeliančių reakciją alergenu ir jų kryžminio reaktyvumo nustatymas padėtų optimizuoti diagnostiką ir parinkti imunoterapinį gydymą.

Gauta 2022 08 17

Priimta 2022 09 15

## LITERATŪRA

1. Chan S, Leung D. Dog and cat allergies: current state of diagnostic approaches and challenges. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2018; 10(2):97.
2. Jarosz M, Syed S, Błachut M, Badura Brzoza K. Emotional distress and quality of life in allergic diseases. *Wiad Lek.* 2020; 73(2):370–3.
3. Grant R, Montrose V, Wills A. ExNOTic: should we be keeping exotic pets? *Animals (Basel).* 2017; 7(12):47.
4. Díaz-Perales A, González-de-Olano D, Pérez-Gordo M, Pastor-Vargas C. Allergy to uncommon pets: new allergies but the same allergens. *Front Immunol.* 2013; 4:492.
5. Curin M, Hilger C. Allergy to pets and new allergies to uncommon pets. *Allergol Select.* 2017; 1(2):214–22.
6. Warwick C. The morality of the reptile“pet” trade. *J Anim Ethics.* 2014; 4(1):74.
7. Yoo Y, Perzanowski M. Allergic sensitization and the environment: Latest Update. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014; 14(10):465.
8. Zahradnik E, Raulf M. Animal allergens and their presence in the environment. *Front Immunol.* 2014; 5:76.
9. Statista. European pet population 2020, by animal. Available at: <https://www.statista.com/statistics/453880/pet-population-europe-by-animal/Bedford>. Date last accessed: July 24 2022.
10. Prince E, Zacharisen M, Kurup V. Anaphylaxis to rabbit: a case report. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998; 81(3):272–3.
11. Liccardi G, D’Amato G, Canonica G, Dente B, Passalacqua G. Severe respiratory allergy induced by indirect exposure to rabbit dander: a case report. *Allergy.* 2004; 59(11):1237–8.
12. Zacharisen M, Levy M, Shaw J, Kurup V. Severe allergic reactions to guinea pig. *Clin Mol Allergy.* 2005; 3(1):14.
13. Ashley S, Brown S, Ledford J, Martin J, Nash A, Terry A, et al. morbidity and mortality of invertebrates, amphibians, reptiles, and mammals at a major exotic companion animal wholesaler. *J Appl Anim Welf Sci.* 2014; 17(4):308–21.

14. Núñez-Acevedo B, Domínguez-Ortega J, Rodríguez-Jiménez B, Kindelan-Recarte C, Jimeno-Nogales L. Hedgehog allergy: new pet, old allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015; 25:376–7.
15. González-de-Olano D, Muñoz-García E, Haroun-Díaz E, Bartolomé B, Pastor-Vargas C. Allergy to hedgehog with carboxypeptidase and chitinase-like and chymotrypsin-like elastase family members as the relevant allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016; 116:256–7.
16. San Miguel-Moncín M, Pineda F, Río C, Alonso R, Tella R, Cisteró-Bahima A. Exotic pets are new allergenic sources: allergy to iguana. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006; 16:212–3.
17. Phillips J, Lockey R. Exotic pet allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123(2):513–5.
18. Funke M, Fellrath J. Hypersensitivity pneumonitis secondary to lovebirds: a new cause of bird fancier's disease. *Eur Respir J*. 2008; 32(2):517–21.
19. Popescu F. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol*. 2015; 5(2):31.
20. Hemmer W, Klug C, Swoboda I. Update on the bird-egg syndrome and genuine poultry meat allergy. *Allergo J Int*. 2016; 25(3):68–75.
21. Posthumus J, James H, Lane C, Matos L, Platts-Mills T, Commins S. Initial description of pork-cat syndrome in the United States. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131(3):923–5.
22. Ahluwalia S, Peng R, Breyse P, Diette G, Curtin-Brosnan J, Aloe C, et al. Mouse allergen is the major allergen of public health relevance in Baltimore City. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132(4):830–5.
23. Willerton L, Mason H. The development of methods to measure exposure to a major rabbit allergen (*Oryzomys*). *AIMS Public Health*. 2018; 5(2):99–110.
24. Hilger C, Kler S, Arumugam K, Revets D, Muller C, Charpentier C, et al. Identification and isolation of a Fel d 1-like molecule as a major rabbit allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(3):759–66.
25. Liccardi G, Triggiani M, Piccolo A, Salzillo A, Parente R, Manzi F, et al. Sensitization to common and uncommon pets or other furry animals: which may be common mechanisms? *Transl Med UniSa*. 2016; 14:9–14.
26. Virtanen T. Lipocalin allergens. *Allergy*. 2001; 56(s67):48–51.
27. Munera M, Contreras N, Sánchez A, Sánchez J, Emiliani Y. In silico analysis of a major allergen from *Rattus norvegicus*, Rat n 1, and cross-reactivity with domestic pets. *F1000Res*. 2019; 8:1707.
28. Saarelainen S, Rytönen-Nissinen M, Rouvinen J, Taivainen A, Auriola S, Kauppinen A, et al. Animal-derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E cross-reactivity. *Clin Exp Allergy*. 2007; 38(2):374–81.
29. Chruszcz M, Mikolajczak K, Mank N, Majorek K, Porebski P, Minor W. Serum albumins-unusual allergens. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(12):5375–81.
30. Mattsson L, Lundgren T, Everberg H, Larsson H, Lidholm J. Prostatic kallikrein: A new major dog allergen. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123(2):362–8.
31. Baker J, Berry A, Boscatto L, Gordon S, Walsh B, Stuart M. Identification of some rabbit allergens as lipocalins. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31(2):303–12.
32. Hilger C, Swiontek K, Kler S, Diederich C, Lehnert C, Vogel L, et al. Evaluation of two new recombinant guinea-pig lipocalins, Cav p 2 and Cav p 3, in the diagnosis of guinea-pig allergy. *Clin Exp Allergy*. 2011; 41(6):899–908.
33. Swiontek K, Kler S, Lehnert C, Ollert M, Hentges F, Hilger C. Component-resolved diagnosis using guinea-pig allergens elucidates allergen sensitization profiles in allergy to furry animals. *Clin Exp Allergy*. 2021; 51(6):829–35.
34. Matsui E. Management of rodent exposure and allergy in the pediatric population. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013; 13(6):681–6.
35. Perry T, Matsui E, Merriman B, Duong T, Eggleston P. The prevalence of rat allergen in inner-city homes and its relationship to sensitization and asthma morbidity. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112(2):346–52.
36. Thewes M, Rakoski J, Ring J. Anaphylactic reaction after a mouse bite in a 9-year-old girl. *Br J Dermatol*. 1999; 141(1):179–9.
37. Kampitak T, Betschel S. Anaphylaxis in laboratory workers because of rodent handling: two case reports. *J Occup Health*. 2016; 58(4):381–3.
38. Visuotinė lietuvių enciklopedija. Šinšiliniai. Prieiga internete: <https://www.vle.lt/straipsnis/sinsiliniai/>. Date last accessed: July 24 2022.
39. Fernández-Parra B, Bisson C, Vatini S, Conti A, Cisteró Bahima A. Allergy to Chinchilla. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009; 19(3):332–3.
40. Fairley J, Suchniak J, Paller A. Hedgehog Hives. *Arch Dermatol*. 1999; 135(5):561–3.
41. Rubio G, Mourelle R, Pineda F, Ojeda I, Yago A, Ojeda P. Asthma Caused by African Hedgehog: A Report of Two Cases. *Ann Clin Case Rep*. 2017; (2):1415.
42. Kelso J, Fox R, Jones R, Yunginger J. Allergy to iguana. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106(2):369–72.
43. San Miguel-Moncín M, Pineda F, Río C, Alonso R, Tella R, Cisteró-Bahima A. Exotic pets are new allergenic sources: allergy to iguana. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2006; (16):212–3.
44. Morgan M, Arlian L, Bernstein J, Yoder J. Allergenicity of the Madagascar hissing cockroach. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007; 98(3):258–61.
45. Jimenez A, Quirce S, Maranon F, Fernandez-Caldas E, Cuesta J, Heras M, et al. Allergic asthma to pet hares. *Allergy*. 2001; 56(11):1107–8.
46. Cantrell F. Envenomation by the Mexican Beaded Lizard: A Case Report. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003; 41(3):241–4.
47. Watson J, Schobitz E, Davis J. Gerbil bite anaphylaxis. *Am J Emerg Med*. 2018; 36(1):171.
48. Ansotegui I, Melioli G, Canonica G, Caraballo L, Villa E, Ebisawa M, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization J*. 2020; 13(2):100080.
49. Curin M, Reininger R, Swoboda I, Focke M, Valenta R, Spitzauer S. Skin prick test extracts for dog allergy diagnosis show considerable variations regarding the content of major and minor dog allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 154(3):258–63.

# Kontaktinė alergija augalinės kilmės alergenams: odos lopo mėginių su Europos bazinės serijos alergenais šešerių metų tyrimų analizė

CONTACT ALLERGY TO PLANT ALLERGENS: A SIX-YEAR ANALYSIS OF EUROPEAN BASELINE SERIES ALLERGENS

JULIJA ŽEMAITYTĖ, KOTRYNA LINAUSKIENĖ, LAURA MALINAUSKIENĖ  
VU MF Klinikinės medicinos instituto Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika

**Santrauka. Įvadas.** Augalai – tai neatsiejama mūsų gyvenimo dalis, o augaliniai produktai tampa vis plačiau naudojami modernioje visuomenėje. Tačiau neretai augalinės medžiagos sukelia kontaktinį įsijautrinimą, kurio klinikinė išraiška – alerginis kontaktinis dermatitas. Alerginiam kontaktiniam dermatitui būdingi nespecifiniai odos išbėrimai, tad diagnozei pagrįsti, alergenai nustatyti indikuotina atlikti odos lopo testą. **Tyrimo tikslas.** Išanalizuoti kontaktinės alergijos augaliniams Europos bazinės serijos alergenams dažnių pokyčius 2015–2020 m. ir aptarti tiriamųjų demografinius ir klinikinius savitumus. **Metodai.** Į tyrimą įtraukti 1 970 dermatitu sergantieji, kuriems Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikose atlikti odos lopo mėginiai Europos bazinės serijos alergenais. **Rezultatai.** 2015–2020 m. bendras kontaktinio įsijautrinimo dažnis Europos bazinės serijos alergenams siekė 55,22 proc. tarp dermatitu sergančių tiriamųjų. Įsijautrinimas augalinėms medžiagoms buvo didžiausias 2018 m., kai siekė 14,21 proc. Sensibilizacija Peru balzamui patvirtinta 7,05 proc., kanifolijai – 4,56 proc., seskviterpeno laktonų mišiniui – 0,81 proc. Įsijautrinimas augaliniams alergenams moterims pasireiškė 84,89 proc. patvirtintų kontaktinės alergijos atvejų. Sergantiesiems gretutinėmis alerginėmis ligomis kontaktinė alergija augaliniams alergenams patvirtinta 33,06 proc. atvejų. Dažniausiai įsijautrinimas augaliniams alergenams pasireiškė 30–39 metų amžiaus grupėje (27,02 proc.). Veido dermatitas nustatytas 40,81 proc., rankų – 25,30 proc., kojų – 6,12 proc. atvejų. **Apibendrinimas.** Kontaktinė alergija augaliniams alergenams statistiškai reikšmingai dažniau patvirtinama moterims ir esant atopinei anamnezei. Įsijautrinimo kanifolijai dažnis su amžiumi statistiškai reikšmingai mažėja. Dažniausia pirminė augalinių medžiagų sukulto alerginio kontaktinio dermatito sritis – veido oda. Įsijautrinimo dažnis Europos bazinės serijos alergenams – 55,22 proc., augalinėms medžiagoms – 11,55 proc. Dažnių pokyčiai 2015–2020 m. statistiškai nereikšmingi.

**Reikšminiai žodžiai:** alerginis kontaktinis dermatitas, odos lopo testas, Europos bazinė serija, augalinių medžiagų alergenai. **Summary. Introduction.** Plants and plant products play a vital role in our daily life and are becoming increasingly popular in the modern world. However, plant-based products can induce allergic contact dermatitis – a clinical manifestation of contact allergy. Skin patch testing should be done since allergic contact dermatitis is characterized by unspecific skin rashes. **Aim of the study.** To assess contact allergy to European Baseline series allergens frequency changes from 2015 to 2020 and determine demographic and clinical characteristics of the individuals. **Methods.** This study included 1 970 patients with contact dermatitis who had been patch tested with European Baseline Series allergens. **Results.** The incidence of at least one positive reaction to the baseline series was 55.22 %. Plant-induced allergic contact dermatitis was the most prevalent in 2018 (14.21 %). Sensitization to balsam of Peru was found in 7.05 %, sensitization to colophony – 4.56 %, and sensitization to sesquiterpene lactone mix – 0.81 % of patients examined for suspected allergic contact dermatitis. In 84.89 % of women, plant allergen sensitization was confirmed. Contact allergy to plant allergens was confirmed in 33.06 % of patients with other allergic diseases. In the age group of 30–39 years old, sensitization to plant allergens was most frequently noted (27.02 %). Dermatitis of the face was seen in 40.81 %, dermatitis of the hands in 25.30 %, and dermatitis of the legs in 6.12 % of contact allergy to plant allergens cases. **Conclusions.** Women and atopic patients with atopic history are more likely to develop contact allergy to plants. The incidence of contact allergy to colophony decreased statistically significantly in the elderly groups. Allergic contact dermatitis was mostly causing face skin rashes. The incidence of at least one positive reaction to the baseline series was 55.22 %, to the plant allergens – 11.55 %, but findings were statistically insignificant.

**Keywords:** allergic contact dermatitis, skin patch test, European baseline series, plant allergens.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1021>

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

## IVADAS

Augalai ir augaliniai produktai yra neatsiejama mūsų gyvenimo dalis, supanti mus namuose, darbovietėje, gamtoje. Rytą pradedame puodeliu kavos arba arbatos, ruošiame maistą, kasdien naudojame prausiklius, drėkinamuosius kremus, šampūnus arba kitas buitinių chemijos priemones, turinčias augalinės kilmės ingredientų, iš kurių populiariausi – tikrasis alavijas (*Aloe vera*), vaistinė ramunė (*Chamomilla officinalis*), tikroji levanda (*Lavandula angustifolia*) ir daugybė kitų [1]. Augaliniai preparatai mėgstami dėl natūralumo, tikima, kad jie yra saugesni, sukelia mažiau nepageidaujamų poveikių, lyginant su dirbtiniais preparatais, tad plačiai naudojami modernioje visuomenėje ir gydomaisiais tikslais, peršalimui, raumenų skausmams, nudegimams arba žaizdoms gydyti. Tačiau neretai augalinės medžiagos gali sukelti kontaktinę alergiją [2]. Kontaktinė alergija – tai imuninės sistemos įsijautrinimas, pasireiškiantis po kartotinio specifinių aplinkos medžiagų poveikio. Kontaktinė alergija kliniškai pasireiškia alerginiu kontaktiniu dermatitu (AKD) [3]. Nustatyta, kad bent vienam alergenui iš Europos bazinės serijos yra įsijautrinę 19,2–21,4 proc. Europos populiacijos ir šis skaičius vis didėja [4, 5]. Kontaktinė alergija dažnesnė 20–69 metų asmenims, o rizika moterims didesnė nei vyrams [4]. Rizikos grupės, kurios dažniau įsijautrina augalams: sodininkai, ūkininkai, miškininkai, kariai, floristai, kosmetologai, muzikantai, bitininkai, staliai, virėjai ir išskyļautojai [3, 5]. Taip pat kontaktinio dermatito rizika didėja sergant kitomis odos ligomis, kai susilpnėja odos barjerinė funkcija, o alerginės arba dirginamosios medžiagos lengviau patenka į gilesnius epidermio sluoksnius [6].

Darbo tikslas buvo įvertinti dermatitu sergančių tiriamųjų įsijautrinimą Europos bazinės serijos ir augalinių medžiagų grupės kontaktiniams alergenams, nustatyti įsijautrinimo šiems alergenams dažnį, dažnio pokyčius 2015–2020 m. ir išnagrinėti su įsijautrinimu susijusius veiksniai.

## TIRIAMIEJI IR METODAI

Tyrime retrospektyviai ištirti 2015–2020 m. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikose (VUL SK) Pulmonologijos ir alergologijos centro dienos stacionare atliktų odos lopo mėginių rezultatai. Biomedicininis tyrimas atliktas gavus leidimą Nr. 158200-16-847-355, kuris pateikiamas 1 priede. Odos lopo mėginiai su Europos bazinės serijos alergenais (*Chemotechnique Diagnostics*) atlikti 1 970 tiriamųjų (302 vyrams ir 1 668 moterims), kuriems buvo įtariamas AKD. Tiriamųjų amžiaus vidurkis – 41,52 metai.

Odos lopo testai su Europos bazinės serijos alergenais (*Chemotechnique Diagnostics*, Vellinge, Švedija) atlikti įdėjus 20 mg tiriamosios medžiagos, ištirpintos vazeline arba 15 µl vandenyje, į 8 mm skersmens Suo-

mių kameras (Finn Chambers®, SmartPractice Ltd, JAV), priklijuotas ant Scanpor® pleistro (Norgesplaster A/S, Vennesla, Norvegija). Jos klijuotos ant viršutinės nugaros dalies dviem paroms ir papildomai pritvirtintos pleistru Mepore (Mölnlycke Health Care, Švedija). Testų vietos pažymėtos specialiu odos žymekliu, atspariu nusitrynimui. Po dviejų parų kameros nuimtos ir vertinta odos reakcija. Testas vertintas pakartotinai ir po 72 val., ir po 7 dienų. Rezultatai vertinti pagal Tarptautinės kontaktinio dermatito tyrimo grupės (angl. *the International Contact Dermatitis Research Group*, ICDRG) kriterijus [7, 8].

Atliekant šį retrospektyvinį tyrimą pildytas protokolas, kur rinkti tirtų pacientų demografiniai rodikliai, išbėrimų lokalizacija, atopinė anamnezė (esančios arba buvusios šios ligos: alerginė astma, atopinis dermatitas, alerginis rinitas ir (arba) teigiami odos dūrio mėginiai, arba specifiniai alergenams imunoglobulinai E (sIgE) kraujyje).

Duomenims susisteminti, apdoroti ir analizuoti naudotos *Microsoft Excel* 14.4.8 ir *IBM SPSS Statistics* 29.0.1 programos. Skirtumai tarp parametrinių rodiklių nustatyti pagal Chi ( $\chi^2$ ) ir Fišerio kriterijus. Rodiklių skirtumai buvo statistiškai reikšmingi, kai apskaičiuotas reikšmingumo lygmuo  $p < 0,05$ . Teigiamų lopo mėginių dažnumo populiacinėms charakteristikoms įvertinti skaičiuoti 95 proc. pasikliautinieji intervalai (PI). Mokslinės literatūros paieška atlikta Vilniaus universiteto bibliotekos informaciniuose ištekliuose, duomenų bazėse *PubMed*, *UpToDate*, pagal *contact allergy*, *allergic contact dermatitis*, *Myroxolon pereira*, *Peru balsam*, *sesquiterpene lactones*, *colophony* reikšminius žodžius.

## REZULTATAI

2015–2020 m. VUL SK Alerginių ir imuninių ligų diagnostikos ir gydymo dienos stacionare atlikti 1 970 odos lopo mėginiai su Europos bazinės serijos alergenais: 302 vyrams ir 1 668 moterims, kuriems buvo įtariamas AKD. Įsijautrinimas nustatytas 1 088 asmenims (55,22 proc., 95 proc. PI 53,02–57,42) (1 pav.) Daugiausia mėginių atlikta 2017 m. (395, 20 proc.), mažiausiai – 2015 m. (208, 11 proc.).

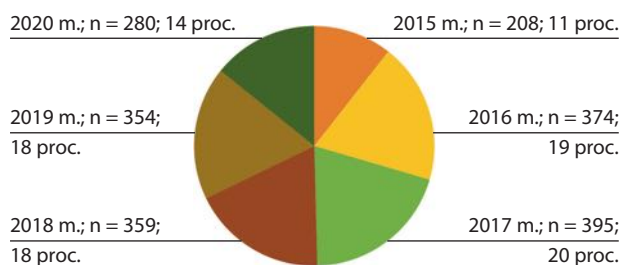
Remiantis MOAHLFAP (angl. *M – male*, vyriškoji lytis; *O – occupation-related contact dermatitis*, profesinių veiksmų nulemtas dermatitas; *A – atopic eczema*, atopinis dermatitas; *H – hands*, pirminė dermatito sritis yra rankose; *L – legs*, pirminė dermatito sritis yra kojose; *F – face*, pirminė dermatito sritis yra veide; *A – age > 40 years*, amžius 40 metų ir daugiau; *P – at least one positive reaction to the baseline series*, daugiau nei viena teigiama odos lopo reakcija), įvertintos pagrindinės demografinės ir klinikinės imties charakteristikos, kurių rezultatai pateikiami 1 lentelėje. Tiriamojame grupėje nustatytas statistiškai reikšmingai

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

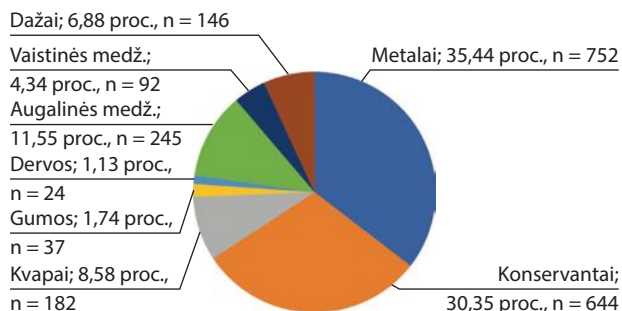
didesnis įsijautrinimo dažnis moterims nei vyrams ( $p = 0,001$ ). Tiriamosios serijos alergenams įsijautrinusių vyresnių nei 40 metų amžiaus grupę sudarė 507 tiriamieji (25,73 proc., 95 proc. PI 23,13–28,33). Atopinė anamnezė (t. y. esančios arba buvusios šios ligos: alerginė astma, atopinis dermatitas, alerginis rinitas ir (arba) teigiami odos dūrio mėginiai, arba sIgE kraujyje) nustatyta 288 (14,61 proc., 95 proc. PI 12,51–16,71) tiriamiesiems. Jiems statistiškai reikšmingai dažniau patvirtintas įsijautrinimas Europos bazinės serijos alergenams ( $p = 0,0003$ ). Pirminė dermatito pasireiškimo sritis dažniausiai yra veidas: veido odos dermatitas patvirtintas 458 (23,24 proc., 95 proc. PI 20,73–25,75) tiriamųjų, rankų dermatitas – 337 (17,10 proc., 95 proc. PI 14,86–19,34) tiriamųjų, o kojų dermatitas – 45 (2,28 proc., 95 proc. PI 1,39–3,17) tiriamųjų.

Atlikus 1 970 odos lopo mėginius, nustatytos 2 122 teigiamos reakcijos. Dažniausios alergenų grupės, sukeliančios kontaktinę alergiją, yra metalai ir konservantai, atitinkamai 35,44 proc. (95 proc. PI 32,02–38,86) ir 30,35 proc. (95 proc. PI 26,80–33,90) visų teigiamų mėginių. Augalinės medžiagos sudaro 11,55 proc. (95 proc. PI 7,55–15,55) teigiamų reakcijų ir pagal dažnį yra trečia dažniausiai pasitaikanti alergenų grupė. Rečiausiai kontaktinę alergiją sukelia gumos (1,74 proc., 95 proc. PI 2,47–5,95). Sensibilizacijos dažnumas skirtingoms Europos bazinės serijos alergenų grupėms vaizduojamas 2 paveiksle.

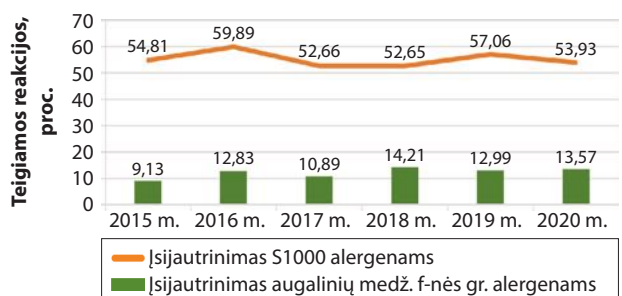
Odos lopo mėginių, patvirtinusių įsijautrinimą bent vienam alergenui iš Europos bazinės serijos, dažnio kitimo per metus palyginimas su įsijautrinimo dažniu tik augalinių medžiagų grupei pateikiamas 3 paveiksle. Teigiami odos lopo testai augalinės kilmės alergenams dažniausiai fiksuoti 2018 m. (14,21 proc., 95 proc. PI 10,60–17,82), dažnio skirtumai yra statistiškai nereikšmingi ( $p = 0,57$ ). Bendrai teigiamų reakcijų skaičius bent vienam Europos bazinės serijos alergenui 2015 m. buvo žemiausias (54,81 proc., 95 proc. PI 48,05–61,57), 2016 m. – aukščiausias (59,89 proc., 95 proc. PI 54,92–64,86). Dažnio skirtumai nagrinė-



**1 pav. Atliktų odos lopo testų skaičius 2015–2020 m. (metai; tiriamųjų skaičius; teigiamumo koeficientas).**



**2 pav. Teigiamų reakcijų Europos bazinės serijos alergenams dažnio pasiskirstymas pagal jų grupes**



**3 pav. Pacientų, įsijautrinusių bent vienam Europos bazinės serijos alergenui, dažnio palyginimas su įsijautrinimu augalinių medžiagų grupei 2015–2020 m.**

jamu laikotarpiu statistiškai nereikšmingi ( $p = 0,77$ ), įsijautrinimo dažnis svyruoja tarp 52–57 proc.

Iš viso analizuojamu laikotarpiu 206 tiriamiesiems nustatytos 245 teigiamos reakcijos augalinių medžiagų grupės alergenams, vidutiniškai po 1,18 reakcijos. Dažniausiai patvirtintas įsijautrinimas Peru balzamui – 139

**1 lentelė. Pagrindinės demografinės ir klinikinės imties charakteristikos pagal MOAHLFAP 2015–2020 m.**

Charakteristika		Atliktų testų skaičius, n	Teigiamų reakcijų skaičius, n	Teigiamų reakcijų skaičius, proc.	Pasikliautinis intervalas (95 proc.)
M	Vyriškoji lytis	1 970	124	6,29	4,85–7,73
O	Profesinis dermatitas	Nevertinta			
A	Atopinės ligos	1 970	288	14,61	12,51–16,71
H	Rankų dermatitas	1 970	337	17,10	14,86–19,34
L	Kojų dermatitas	1 970	45	2,28	1,39–3,17
F	Veido dermatitas	1 970	458	23,24	20,73–25,75
A	Amžius > 40 metų	1 970	507	25,73	23,13–28,33
P	≥ 1 teigiama odos lopo reakcija	1 970	1 088	55,22	53,02–57,42



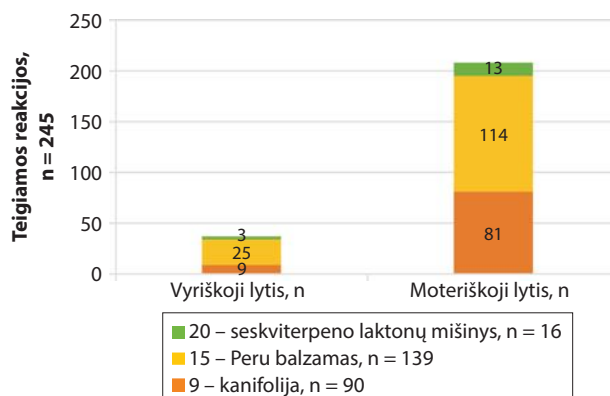
# Moksliniai darbai ir apžvalgos

(7,05 proc.), kiek rečiau nustatyta sensibilizacija kanifolijai – 90 (4,56 proc.), ir 16 (0,81 proc.) atvejų kontaktinė alergija patvirtinta seskviterpeno laktonų (SL) mišiniui. Tik vienam iš trijų minėtos grupės alergenų įsijautrinę 178 (86,40 proc.), dviems iš trijų alergenų – 25 (12,13 proc.), visiems trims šios funkcinės klasės alergenams buvo jautrūs trys tiriamieji (1,45 proc.). Kaip ir visų funkcinių grupių atveju, kontaktinė alergija augaliniams alergenams dažniau pasireiškė moterims nei vyrams. AKD augaliniams alergenams dažnio pasiskirstymas vyrų ir moterų grupėse vaizduojamas 4 paveiksle. Šiame tyrime nustatyta 90 įsijautrinimo kanifolijai atvejų, iš kurių 90 proc. (80 atvejų) patvirtinta moterims. Įsijautrinimas Peru balzamui nustatytas 139 tiriamųjų – 82,01 proc. (114) moterims. Seskviterpeno laktonų mišiniui jautrūs 16 tiriamųjų, 81,25 proc. (13) atvejų – moterų.

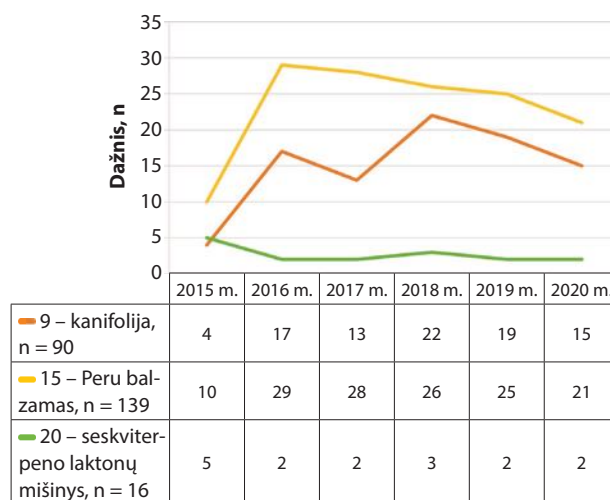
Įsijautrinimo augalinių medžiagų grupės atskiriems alergenams dažniau vaizduojami 5 paveiksle. Didžiausias kontaktinės alergijos atvejų skaičius kasmet fiksuotas Peru balzamui – daugiausia atvejų nustatyta 2016 m. – 29 (7,75 proc.). Nuo 2016 m. įsijautrinimas Peru balzamui mažėjo ir 2020 m. siekė 7,50 proc., bet dažnio skirtumai yra statistiškai nereikšmingi ( $p = 0,84$ ). Kontaktinė alergija kanifolijai dažniausiai patvirtinta 2018 m. – 22 atvejai (6,21 proc.), vėliau įsijautrinimas kanifolijai mažėjo, bet statistiškai nereikšmingai ( $p = 0,38$ ). Rečiausiai nustatyta alergija SL mišiniui – įsijautrinimas siekė 2–3 atvejus per metus (4,16–5,88 proc.), dažnio skirtumai statistiškai nereikšmingi ( $p = 0,36$ ).

Vertinant kontaktinės alergijos augaliniams alergenams pasireiškimo lokalizaciją nustatyta, kad veido srities dermatitas patvirtintas 40,81 proc., 25,30 proc. pasireiškė rankų dermatitas ir 6,12 proc., įsijautrinusių augalinių medžiagų grupės alergenams, – kojų dermatitas. Sensibilizacija kanifolijai dažniausiai pasireiškia veido srities dermatitu (38 atvejai, 4,40 proc. visų patvirtintų veido dermatito atvejų). Veido dermatitas, sukeltas Peru balzamo, tyrime patvirtintas 55 kartus (6,37 proc. veido dermatito atvejų). SL mišinys dažniausiai (35 tiriamiesiems) sukėlė kitų sričių dermatitą (6,70 proc.) (6 pav.).

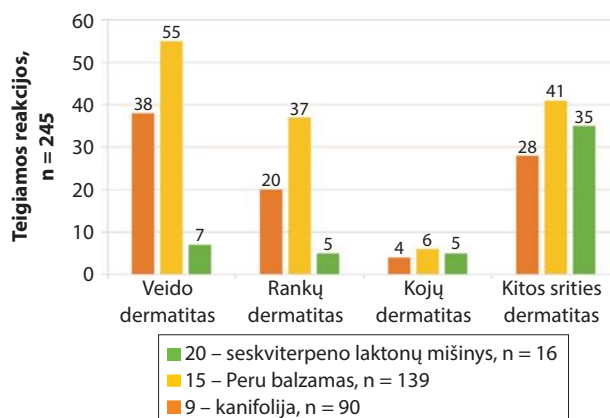
Norint atlikti išsamią duomenų analizę ir nustatyti sensibilizacijos Europos bazinės serijos alergenams paplitimą pagal amžių, tiriamieji buvo suskirstyti į septynias amžiaus grupes. Daugiausia kontaktinė alergija bent vienam tiriamosios serijos alergenai patvirtinta 30–39 metų amžiaus grupėje – 294 atvejai (27,02 proc.). Vyresnio amžiaus grupėse kontaktinės alergijos dažnis statistiškai reikšmingai mažėja ( $p = 0,0001$ ). Mažiausią teigiamų testų dalį sudaro ≤ 18 metų amžiaus tiriamieji – keturi atvejai (0,36 proc.). Kontaktinė alergija Peru balzamui dažniausiai pasireiškė 40–49 metų amžiaus grupėje – 29 atvejai



4 pav. Alerginio kontaktinio dermatito augaliniams alergenams dažnio pasiskirstymas vyrų ir moterų grupėse



5 pav. Įsijautrinimas augalinių medžiagų grupės alergenams pamečiui



6 pav. Alerginio kontaktinio dermatito Europos bazinės serijos augaliniams alergenams pasireiškimo vietos ir dažnio pasiskirstymas

(20,86 proc.). Kanifolijai daugiausia įsijautrinę tiriamieji, esantys 19–29 metų grupėje (22 atvejai, 24,44 proc.), su amžiumi įsijautrinimas kanifolijai statistiškai reikšmingai mažėja ( $p = 0,03$ ). Kontaktinės alergijos SL mišiniui dažnio skirtumai amžiaus grupėse skiriasi statistiškai nereikšmingai ( $p = 0,44$ ), dažniausiai kontaktinė alergija SL patvirtinta 30–39 metų ir

60–69 metų amžiaus grupėse – po keturis kartus (25 proc.). Kanifolijai įsijautrinusių tiriamųjų amžiaus vidurkis 43,3 metai, Peru balzamai – 46,9 metai, SL mišiniui – 45,9 metai.

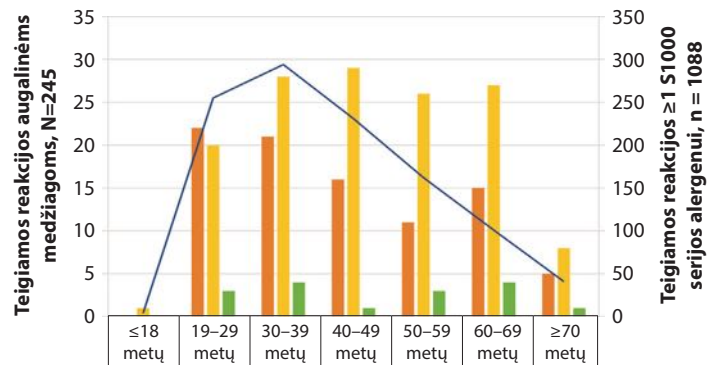
Išsami įsijautrinimo Europos bazinės serijos ir atskiriems augaliniams alergenams skirtingose amžiaus grupėse analizė pateikiama 7 paveiksle.

8 paveiksle pateikiamas pacientų, neturinčių atopinės anamnezės ir įsijautrinusių augaliniams alergenams, teigiamų reakcijų dažnio palyginimas su atopiškais tiriamaisiais, kuriems patvirtinta kontaktinė alergija augalams. Esant atopinei anamnezei, statistiškai reikšmingai dažniau patvirtinama kontaktinė alergija augaliniams alergenams ( $p = 0,0003$ ). Tarp įsijautrinusių SL mišiniui daugiau kaip pusė pacientų (56,25 proc.) turėjo atopinę anamnezę, o tarp įsijautrinusių Peru balzamai arba kanifolijai tokių pacientų buvo mažiau (atitinkamai 25 (27,78 proc.) ir 47 (33,81 proc.).

## REZULTATŲ APTARIMAS

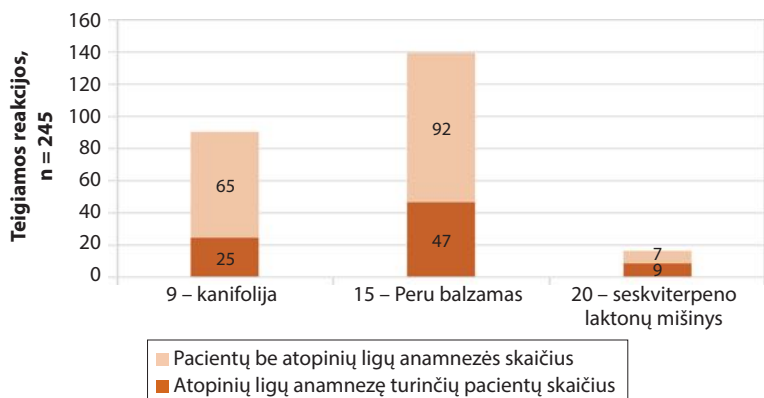
Atlikus retrospektyvinę analizę nustatyta, kad 2015–2020 m. Europos bazinės serijos alergenams yra įsijautrinę 55,22 proc. (95 proc. PI 53,02–57,42) dermatitu sergančiųjų. Sensibilizacija įvairiems alergenams yra susijusi su demografiniais ir klinikiniais veiksniais (amžiumi, lytimi, pirmine dermatito lokalizacija, gretutinėmis alerginėmis ligomis). Į tyrimą įtrauktų tiriamųjų amžius svyravo tarp 18–87 metų, dauguma priskiriami jaunesnio amžiaus grupei (< 40 metų), tik 25,73 proc. (95 proc. PI 23,13–28,33) kontaktinės alergijos atvejų nustatyta vyresniems nei 40 metų asmenims. Daugiausia alergija patvirtinta 30–39 metų grupėje (27,22 proc. visų patvirtintų AKD atvejų). Vyresnio amžiaus grupėse alergijos dažnis statistiškai reikšmingai mažėja ( $p = 0,0001$ ). Remiantis Europoje atliktais tyrimais, kontaktinė alergija dažniau pasireiškia vyresniems nei 40 metų asmenims (44,30–72,90 proc.) [8, 9]. Odos senėjimas vyresniame amžiuje pasireiškia struktūriniais ir imunologiniais pokyčiais: dėl lėtinių gretutinių susirgimų (stazinio dermatito, lėtinio venų nepakankamumo) sutrinka epidermio barjerinė-apsauginė funkcija, sulėtėja odos regeneracija, tai gali lemti didesnę alerginių medžiagų patekimą į odą. Kita vertus, senstant silpnėjanti imuninės sistemos funkcija ir didėjanti imuninė tolerancija gali sumažinti polinkį išsivystyti AKD. Taigi, kontaktinės alergijos vertinimas

vyresnio amžiaus asmenims gali būti painus [10]. Kaip ir kituose atliktuose tyrimuose, kontaktinė alergija dažniau nustatoma moterims nei vyrams ( $p = 0,001$ ). Net 84,9 proc. visų įsijautrinimo bent vienam tiriamosios serijos alergenai atvejų patvirtinta moterims. Šios analizės rezultatus galėjo paveikti tai, kad į tyrimą įtraukta 1 704 moterų (84,90 proc.) ir 303 vyrų (15,10 proc.). Jungtinėje Karalystėje atliktame tyrime nustatyta, kad moterys 32 proc. dažniau nei vyrai rūpinasi savimi ir dėl savo sveikatos būklės kreipiasi į pirminę asmens sveikatos priežiūros įstaigą ištyrimui [11]. Dažniausiai įsijautrinimas pasireiškia veido dermatitu – 23,24 proc. atvejų (95 proc. PI 20,73–25,75). Antroje vietoje pagal išbėrimų atsiradimo lokalizaciją yra rankų oda – 17,10 proc. atvejų (95 proc. PI 14,86–19,34). Kojų dermatitas kasmet išliko rečiausia (2,28 proc., 95 proc. PI 1,39–3,17) pirminė dermatito atsiradimo sritis. Veidas statistiškai reikšmingai dažniausia, o kojos –



	≤18 metų	19–29 metų	30–39 metų	40–49 metų	50–59 metų	60–69 metų	≥70 metų
9 – kanifolija, n = 90	0	22	21	16	11	15	
15 – Peru balzamas, n = 139	1	20	28	29	26	27	8
20 – seskviterpeno laktonų mišinys, n = 16	0	3	4	1	3	4	1
Įsijautrinimas ≥ 1 S1000 serijos alergenai, n = 1088	4	255	294	231	162	101	41

7 pav. Įsijautrinimo Europos bazinės serijos ir augalinių medžiagų alergenams dažnis skirtingose amžiaus grupėse



8 pav. Pacientų, neturinčių atopinės anamnezės ir įsijautrinusių augaliniams alergenams teigiamų reakcijų, dažnio palyginimas su atopiškais tiriamaisiais, kuriems patvirtinta kontaktinė alergija augalams

# Moksliniai darbai ir apžvalgos

rečiausia dermatito lokalizacija kiekvienais metais nuo 2015 m. iki 2020 m. ( $p = 0,01$ ). Literatūroje nurodoma, kad rankų dermatitas yra dažniausiai pasitaikanti pirminė dermatito lokalizacija (22 proc. dermatito atvejų), veido dermatito dažnis siekia 16,90 proc., o kojų dermatito – 3,70 proc. [12]. Dermatitui būdingi išbėrimai yra nespecifiniai, todėl reikėtų atidžiai diferencijuoti iritacinį kontaktinį dermatitą (IKD) ir silpnai teigiamą AKD reakciją. Nustatyta, kad IKD dažniau būdingi išbėrimai ant rankų. 33,06 proc. (95 proc. PI 27,17–38,95) tiriamųjų, kuriems lopo testu patvirtinta kontaktinė alergija augaliniams alergenams, serga gretutinėmis alerginėmis ligomis. Tyrimo metu nustatyta, kad sergantiems alerginėmis ligomis statistiškai reikšmingai dažniau patvirtintas įsijautrinimas Europos bazinės serijos augalų grupės alergenams ( $p = 0,0004$ ). Atopiškiems, pavyzdžiui, sergantiems atopiniu dermatitu pacientams odos barjerinė funkcija pažeidžiama dėl baltymo filagrino mutacijų, tai lemia lengvesnę alergenų penetraciją į epidermį. Taip pat pacientams su atopijos anamneze būdinga padidėjusi Th2 citokinių, antigenus teikiančių ląstelių, koncentracija odoje, kuri predisponuoja AKD išsivystymą [13, 14].

Augalinių medžiagų grupė užima trečią vietą pagal sukeltą kontaktinės alergijos dažnumą tarp visų Europos bazinės serijos alergenų grupių (11,55 proc., 95 proc. PI 10,97–13,89). Teigiamų odos lopo mėginių augalinėms medžiagoms dažnis 2015 m. siekė 9,13 proc. (95 proc. PI 5,22–13,04), pasiekė piką 2018 m. – 14,21 proc. (95 proc. PI 10,60–17,82), leidosi iki 2020 m. (13,57 proc., 95 proc. PI 9,56–17,58), bet dažnio pokyčiai tiriamuoju laikotarpiu yra statistiškai nereikšmingi ( $p = 0,57$ ). Populiarėjant natūralios kilmės produktams, plačiai naudojamiems kosmetikos pramonėje ir buityje, tikėtina, kad įsijautrinimas augalinėms medžiagoms ir jų sukeltas AKD gali dažnėti, išlikti aktuali problema, su kuria labiau susiduria moterys. Labiausiai paplitusi įsijautrinimą sukelianti augalinė medžiaga – Peru balzamas, teigiamą odos lopo reakciją sukėlęs 7,05 proc. tiriamųjų. Šiame tyrime gautas dažnis yra panašus į nustatytą kitų Europos šalių tyrimuose (2,60–7,80 proc.) [15, 16]. Daugiausia alergijos Peru balzamai atvejų nustatyta 2016 m. – 7,75 proc., vėliau šis dažnis mažėjo, tačiau statistiškai nereikšmingai ( $p = 0,83$ ). AKD Peru balzamai dažniausiai pasireiškė 40–49 metų amžiaus grupėje, 33,81 proc. šiai medžiagai įsijautrinusių tiriamųjų serga gretutinėmis alerginėmis ligomis. Kanifolijos sukeltos kontaktinės alergijos, patvirtintos lopo mėginiu, dažnis Europoje svyruoja tarp 1,40–5,20 proc. [17]. Šiame tyrime nustatytas įsijautrinimo kanifolijai dažnis yra panašus – 4,56 proc. Didžiausias kanifolijos sukeltos AKD dažnis fiksuotas 2018 m. – 6,21 proc., su amžiumi įsijautrinimas kanifolijai statistiškai reikšmingai mažėja ( $p = 0,03$ ). Kontaktinė alergija kanifolijai moterims nustatyta dažniau

nei vyrams, tikėtina, kad dėl dažnesnio kosmetikos priemonių naudojimo, kurių sudėtyje randama kanifolijos. 90 proc. kontaktinės alergijos kanifolijai atvejų yra patvirtinta moteriškosios lyties atstovėms. Kanifolija labiausiai sensibilizuoti tiriamieji, esantys 19–29 metų amžiaus grupėje, 27,78 proc. tiriamųjų turi atopinių ligų anamnezę. Kaip ir kitų Europos bazinės alergenų grupių atveju, augalinių medžiagų alergenai (Peru balzamas ir kanifolija) dažniausiai sukelia veido srities dermatitą. 5,08 proc. veido dermatito atvejų yra sukelti šių augalinių medžiagų. SL mišinio tyrime įsijautrinę 0,81 proc. tiriamųjų. Remiantis Europoje atliktais tyrimais, kontaktinės alergijos dažnis SL siekia 0,98 proc. [9]. SL sukeltos AKD dažnis skirtingose amžiaus grupėse skiriasi statistiškai nereikšmingai ( $p = 0,35$ ), dažniau nustatytas 30–39 metų ir 60–69 metų amžiaus grupėse. Įsijautrinimas SL dažniau pasireiškė sergantiems gretutinėmis alerginėmis ligomis – 56,25 proc. tiriamųjų, kuriems patvirtinta kontaktinė alergija SL, turi atopinių ligų anamnezę. SL dažniausiai sukėlė kitų sričių dermatitą – 6,70 proc. visų patvirtintų kitų sričių dermatito atvejų. Dažniausiai įsijautrinimas augaliniams alergenams pasireiškia veido dermatitu – 40,81 proc. atvejų. Antroje vietoje pagal išbėrimų atsiradimo lokalizaciją yra rankų oda – 25,30 proc. atvejų. Kojų dermatitas kasmet, nuo 2015 m. iki 2020 m. ( $p = 0,01$ ), išliko rečiausia (6,12 proc.) pirminė dermatito atsiradimo sritis.

## IŠVADOS

- Įsijautrinimo augalinėms medžiagoms pikas nustatytas 2018 m., vėliau šis dažnis mažėjo, bet pokyčiai statistiškai nereikšmingi.
- Remiantis odos lopo mėginiu, atliktu 2015–2020 m. Europos bazinės serijos alergenais, rezultatais, matoma, kad kontaktinė alergija augalinėms medžiagoms statistiškai reikšmingai dažniau patvirtinama moterims ir sergantiems gretutinėmis alerginėmis ligomis (astma, alerginiu rinitu arba atopiniu dermatitu) arba turintiems atopinę anamnezę.
- Vyresnio amžiaus grupėse kontaktinės alergijos kanifolijai dažnis statistiškai reikšmingai mažėja.
- Augaliniai alergenai dažniausiai susiję su AKD veido srityje, o rečiausiai – su kojų išbėrimais.

*Gauta 2022 07 28*

*Priimta 2022 09 12*

## LITERATŪRA

1. Sheehan MP. Plant associated irritant & allergic contact dermatitis (phytodermatitis). *Dermatol Clin.* 2020; 38(3):389–98.
2. Gilissen L, Huygens S, Goossens A. Allergic contact dermatitis caused by topical herbal remedies: importance of patch testing with the patients' own products. *Contact Dermatitis.* 2018; 78(3):177–84.
3. Watchmaker L, Reeder M, Atwater AR. Plant dermatitis: more than just poison ivy. *Cutis.* 2021; 108(3):124–7.
4. Esser PR, Mueller S, Martin SE. Plant allergen-induced contact dermatitis. *Planta Med.* 2019; 85(7):528–34.
5. Lovell C, Paulsen E, Lepoittevin JP. Adverse skin reactions to

- plants and plant products. In: Johansen JD, Mahler V, Lepoittevin JP, Frosch PJ, eds. *Contact Dermatitis*. Cham: Springer International Publishing. 2020.
- 6. Beliauskienė A.** Dermatitu sergančių pacientų išsijautrinimo kontaktiniams alergenams ir su juo susijusių veiksnių tyrimas. Daktaro disertacija. Kaunas, 2012. Interentinė prieiga: <https://www.lsmuni.lt/cris/bitstream/20.500.12512/12069/2/Disertacija%20ABeliauskiene.pdf>
  - 7. Linauskienė K, Malinauskienė L, Blažienė A.** Time trends of contact allergy to the European baseline series in Lithuania. *Contact Dermatitis*. 2017; 76(6):350–6.
  - 8. Beliauskienė A, Valiukevičienė S, Uter W, Schnuch A.** The European baseline series in Lithuania: results of patch testing in consecutive adult patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011; 25(1):59–63.
  - 9. Uter W, Wilkinson SM, Aerts O, Bauer A, Borrego L, Buhl T, et al.** European patch test results with audit allergens as candidates for inclusion in the European Baseline Series, 2019/20: Joint results of the ESSCAA and the EBSB working groups of the ESCD, and the GEIDACC. *Contact Dermatitis*. 2022; 86(5):379–89.
  - 10. Prakash AV, Davis MDP.** Contact dermatitis in older adults. *Am J Clin Dermatol*. 2010; 11(6):373–81.
  - 11. Wang Y, Hunt K, Nazareth I, Freemantle N, Petersen I.** Do men consult less than women? An analysis of routinely collected UK general practice data. *BMJ Open*. 2013; 3(8):e003320.
  - 12. Nassau S, Fonacier L.** Allergic contact dermatitis. *Med Clin North Am*. 2020; 104(1):61–76.
  - 13. Slodownik D, Rabah SM, Levi A, Moshe S, Lapidoth M, Ingber A, et al.** The relationship between atopy and allergic contact dermatitis in Israeli patients. *Adv Dermatol Allergol Dermatol Alergol*. 2022; 39(1):159–63.
  - 14. Kirchhof MG, de Gannes GC.** Atopy associated with positive patch test and possible allergic contact dermatitis. *J Cutan Med Surg*. 2018; 22(4):405–10.
  - 15. Guarneri F, Corazza M, Stingeni L, Patruno C, Napolitano M, Pigatto PDM, et al.** Myroxylon pereirae (balsam of Peru): Still worth testing? *Contact Dermatitis*. 2021; 85(3):269–73.
  - 16. Wolf R, Orion E, Ruocco E, Baroni A, Ruocco V.** Contact dermatitis: Facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2013; 31(4):467–78.
  - 17. Hamstra A, Jacob, SE.** A review of colophonium. *The Dermatologist*. 2015. Available at: <https://www.hmpgloballlearningnetwork.com/site/thederm/site/cathlab/event/review-colophonium> [Date last accessed: 2022 Apr 19].

# ROS1 teigiamo nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio gydymo entrektinibu veiksmingumas ir saugumas

EFFICACY AND SAFETY OF TREATMENT WITH ENTRECTINIB IN ROS1-POSITIVE NON-SMALL CELL LUNG CANCER

SKAIDRIUS MILIAUSKAS  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Genų pertvarkymai, paveikiantys ROS1 receptoriaus tirozino kinazę, gali sąlygoti nuolat aktyvių sulietų onkoproteinų atsiradimą. ROS1 suliejimai (angl. *fusions*) randami esant įvairiems navikams ir būna 1–2 proc. nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio (NSLPV) atvejų. Nustačius ROS1 teigiamą NSLPV, iki 40 proc. pažengusios ligos atvejų aptinkamos centrinės nervų sistemos (CNS) metastazės. Entrektinibas yra patvirtintas tirozino kinazės inhibitorius ROS1 teigiamam NSLPV gydyti. Straipsnyje pateikiami atnaujinti integruoti klinikinių tyrimų ALKA-372-001, STARTRK-1 ir STARTRK-2 duomenys, į kuriuos įtraukti 168 sergantieji ROS1 teigiamu NSLPV ir dar negydyti pacientai. Vidutinis išgyvenamumo stebėsenos laikotarpis buvo 29,1 mėn. (interkvartilinis intervalas 21,8–35,9). Objektivaus atsako dažnis buvo 68 proc. (95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 60,2–74,8); vidutinė atsako trukmė – 20,5 mėn. Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo buvo 15,7 mėn., o vidutinis bendrasis išgyvenamumas – 47,8 mėn. 25 pacientams su išmatuojamomis CNS metastazėmis objektyvus intrakranijinio atsako dažnis buvo 80 proc. (95 proc PI: 59,3–93,2), vidutinė intrakranijinio atsako trukmė buvo 12,9 mėn., vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo – 8,8 mėn. Tarp 18 pacientų, kuriems, gydant krizotinibu, liga progresavo tik CNS, toliau gydant entrektinibu, dviem atvejais pasiektas dalinis atsakas (11 proc.), o keturiais – stabili liga (22 proc.). Šios kohortos septynių pacientų subgrupėje vienam pacientui (14 proc.) buvo fiksuotas dalinis objektyvus intrakranijinis atsakas. Entrektinibas yra veiksmingas vaistas, leidžiantis prailginti išgyvenamumą, esant ROS1 teigiamam NSLPV. Pacientams, kuriems, gydant krizotinibu, liga progresavo tik CNS, vaisto veikimas buvo nepakankamai veiksmingas.

**Reikšminiai žodžiai:** nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys, ROS1, taikinių terapija.

**Summary.** Recurrent gene fusions are oncogenic drivers of various cancers. ROS1 fusions are enriched in non-small cell lung cancers (NSCLCs) and are present in 1–2 % of cases. Entrectinib is an approved tyrosine kinase inhibitor for ROS1 fusion-positive NSCLC. An updated and integrated analysis of entrectinib from the ALKA-372-001, STARTRK-1 and STARTRK-2 trials is presented in this article. The median survival follow-up was 29.1 months (interquartile range, 21.8–35.9). The objective response rate was 68 % (95 % confidence interval: 60.2–74.8); the median duration of response was 20.5 months. The median progression-free survival was 15.7 months and the median overall survival was 47.8 months. In 25 patients with measurable CNS metastases, the objective intracranial response rate was 80 %. (95 % CI: 59.3–93.2), median duration of intracranial response was 12.9 months, and median progression-free survival was 8.8 months. Among 18 patients with only CNS progression, crizotinib resulted in two partial responses (11 %) and four with stable disease (22 %). Seven cases from this cohort had an overall intracranial response rate of 14 % (one partial response). Entrectinib is an effective drug to prolong survival in ROS1-positive NSCLC. Modest activity is seen in patients with CNS-only progression post-crizotinib.

**Keywords:** non-small cell lung cancer, ROS1, targeted therapy.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1022>

### IVADAS

Plaučių vėžys yra viena labiausiai paplitusių pasaulyje onkologinių ligų, lemianti didelį mirtingumą. Diagnozuojant plaučių vėžį, diagnozę būtina patvirtinti morfologiškai (nustatyti tikslų histologinį tipą), įvertinti ligos išplitimą (nustatyti TNM stadiją) [1]. Taip pat reikia įvertinti paciento funkcinę ir vidaus organų būklę, esamas gretutines ligas. Plaučių vėžio morfologinė diagnostika grindžiama 2021 m. Pasaulio sveikatos

organizacijos patvirtinta plaučių navikų klasifikacija [2]. Klinikinėje praktikoje, atsižvelgiant į plaučių vėžio biologiją, prognozę ir gydymo taktiką, plaučių piktybiniai navikai klasifikuojami į nesmulkiųjų ir smulkiųjų ląstelių plaučių vėžį. Morfologiškai plaučių vėžys skiriamas į keturis pagrindinius histologinius tipus (plokščiųjų ląstelių karcinoma, adenokarcinoma, didelių ląstelių karcinoma, smulkiųjų ląstelių karcinoma) ir kitus retus vėžio tipus. Mažiausiai 80 proc.

atvejų nustatomas nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys (NSLPV).

Molekulinių pažaidų nustatymas vis plačiau taikomas molekulinėi plaučių vėžio diagnostikai. Nustatyta, kad molekulinės pažaidos yra tiesiogiai susijusios su plaučių kancerogeneze, daro įtaką klinikinei ligos eigai, sąlygoja gydymo veiksmingumą. Epidermio augimo veiksnio receptoriaus (angl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) geno aktyvinamosios mutacijos (tarp baltosios rasės žmonių šių mutacijų pasireiškimo dažnis siekia 10 proc.) susijusios su klinikiniu EGFR tirozino kinazės inhibitorių (TKI) (gefitinibas, erlotinibas, afatinibas, osimertinibas) veiksmingumu, o anaplatinės limfomos receptoriaus tirozino kinazės (angl. *anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase*, ALK) geno translokacija (pažaidos dažnis 5 proc.) susijusi su klinikiniu ALK inhibitorių (alektinibas) veiksmingumu. Atnaujintose plaučių vėžio molekulinio genetinio tyrimo gairėse visiems pacientams rekomenduojama ištirti EGFR geno mutacijas, ALK ir ROS1 genų translokacijas. Kiti tyrimai – BRAF, MET, RET, ERBB2 (HER2), KRAS – įvardijami kaip galimi išplėstiniai tyrimai [1]. Remiantis Europos onkologų chemoterapeutų draugijos (angl. *European Society of Medical Oncology*, ESMO) gairėmis, visais atvejais, kai nustatyta plaučių adenocarcinoma, prieš skiriant sisteminį gydymą, atliekant naujos kartos sekoskaitos tyrimą, būtina ištirti dėl EGFR, ALK, MET, RET, ROS1, NTRK mutacijų, kurios priklauso ESCAT (angl. *ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets*) pirmajai kategorijai. Šiai kategorijai priskiriamos mutacijos, kuomet klinikiniais tyrimais yra patvirtintas veiksmingas medikamentinis gydymas [3].

Pirmą kartą 1761 m. aprašyta, kad viena liga, plaučių vėžys, kaip žinoma šiandien, vertinant molekulinį pobūdį, yra heterogeniškai kita liga [4]. Ieškant veiksmingo šios ligos gydymo, 2021 m. buvo ištirti 707 potencialūs vaistai, 590 skirti NSLPV ir 117 smulkiųjų ląstelių plaučių vėžiui (SLPV) gydyti. NSLPV srityje buvo 214 imunoonkologinių vaistų (57 proc. tirti antrosios arba trečiosios fazės klinikiniuose tyrimuose), 376 ne imunoonkologiniai (55 proc. tirti antrosios arba trečiosios fazės klinikiniuose tyrimuose). SLPV srityje tirti 36 imunoonkologiniai ir 81 ne imunoonkologiniai vaistai. Didžiausia NSLPV dalis yra ne imunoonkologinė – 309 taikinių terapijos vaistai (183, iš jų 59 proc. tirti antrosios arba trečiosios fazės klinikiniuose tyrimuose). Iš 309 tirtų taikinių terapijos vaistų, proliferacinių signalų inhibitoriai sudaro didžiausią dalį – 166 junginiai, iš kurių 87 (52 proc.) tirti antrosios arba trečiosios fazės klinikiniuose tyrimuose [5]. Ne imunoonkologiniai vaistai – ne vien TKI. Žinant plaučių vėžio molekulinę įvairovę ir platų vystomą potencialių gydymo taikinių spektrą, prognozuojama, kad vis daugiau plaučių vėžio atvejų bus gydoma remiantis biožymenimis (tiek atren-

kant pacientus gydymui, tiek tiriant gydymo veiksmingumą, tiek stebint dėl atkryčio arba ligos progresavimo).

## ROS1 GENO REIKŠMĖ SERGANT PLAUČIŲ VĖŽIU

ROS1 genas (angl. *c-ros oncogene 1*) – tai genas, susijęs su sergančiųjų plaučių vėžiu chromosomų translokacijomis [3, 4]. Su ROS1 pertvarkymu siejama unikali plaučių vėžio kategorija. ROS1 – tai *c-ros* onkogeno 1 receptoriaus (iš insulino receptorių šeimos) tirozino kinazė. Pasikartojantys genų suliejimai (angl. *fusions*) yra įvairių vėžio formų onkogeniniai sukėlėjai (angl. *drivers*) [6]. ROS1 pertvarkymai / translokacijos sąlygoja nepakitusio ROS1 tirozino kinazės domeno suliejimus su genais-partneriais, kurie įprastai yra kitoje chromosomoje. Tokiu būdu susidaro onkoproteinas, atsakingas už nuolatinę kinazės aktyvaciją, tolesnį signalo perdavimą ir tumoro augimą [7]. Chromosomų pertvarkymai, kai paveikiamas ROS1 genas, pirmą kartą aprašyti esant glioblastomoms, kai ROS1 (chromosoma 6q22) susiliejo su FIG genu (chromosoma 6q22 yra greta ROS1) [8–10]. ROS1 pertvarkymai plaučių vėžio ląstelėse pirmą kartą nustatyti HCC78 ląstelių linijoje 2007 m. [11]. Nuo pat pradžių ROS1 pertvarkymai buvo aprašyti sergantiesiems išplitusia plaučių adenokarcinoma ir nerūkantiems jaunesniems pacientams, dažniau azijiečiams [12]. Netikėtai buvo nustatyta, kad HCC78 linijos ląstelės buvo jautrios TKI krizotinibui dėl tirozino kinazių ALK ir ROS1 domenų homologijos [13, 14]. ROS1 suliejimai sergant NSLPV nustatomi 1–2 proc. atvejų [15]. Taigi, kai suliejamas ROS1 genas, vėžio ląstelės pradeda nekontroliuojamai daugintis ir plisti. Įprastai, sergant NSLPV, ROS1 suliejimai nevyksta kartu su kitomis kanoninėmis pažaidomis, įskaitant NTRK suliejimus [16]. Skiriant taikinių terapiją sergantiesiems ROS1 teigiamu (esant ROS1 suliejimui) NSLPV būtina, kad vaistas patektų ir veiktų centrinėje nervų sistemoje (CNS), nes tai yra būdinga metastazių vieta. Iki 36 proc. ROS1 teigiamo NSLPV CNS metastazės nustatomos jau diagnozavus išplitusį NSLPV, o daugumoje kitų atvejų CNS metastazės atsiranda vėliau [17]. Nors krizotinibas yra kelių vaistų agentūrų patvirtintas išplitusiam ROS1 teigiamam NSLPV gydyti, jo prasiskverbimas į CNS yra nepakankamas [18, 19]. CNS yra pirmoji ir vienintelė beveik pusės sergančiųjų metastazių vieta, esant ROS1 suliejimo sąlygotam NSLPV, kuris buvo gydomas krizotinibu [20]. Krizotinibą iš CNS aktyviai šalina P-glikoproteinas [21]. Todėl šiam vėžiui gydyti reikalingi ROS1 inhibitoriai su potencialiu intrakranijiniu aktyvumu.

Apibendrinant, ROS1 translokacijos apibrėžia atskirą molekulinį NSLPV pogrupį, kuriam būdingos išskirtinės klinikinės charakteristikos, panašios į ALK pertvarkymų sukeltą NSLPV, kuris turi būti gydomas TKI, turinčiais gerą prasiskverbimą į CNS.

## ROS1 TEIGIAMO NSLPV GYDYMAS ENTREKTINIBU

Entrektinibas – tai maža TKI molekulė, galingas ROS1 inhibitorius, specialiai sukurtas, kad galėtų pereiti hematoencefalinį barjerą ir išliktų aktyvus CNS [22]. Iki klinikiniais modeliais patvirtinta, kad entrektinibas yra silpnas P-glikoproteino substratas, todėl CNS susidaro didelės šio vaisto koncentracijos [18]. Entrektinibas yra multikinazių inhibitorius, aktyvus prieš ROS1 (taip pat ir prieš tropomiozino receptoriaus kinazę (TRK) A, B, C ir ALK) [23–25]. Gydomo entrektinibu, sergant negydytu ROS1 teigiamu NSLPV, veiksmingumas buvo tirtas trijuose perspektyviuosiuose pirmosios arba antrosios fazės klinikiniuose tyrimuose. Į šiuos tyrimus įtraukti 18 metų ir vyresni sergantieji lokaliai išplitusiu arba metastazavusiu tyrimo pradžioje išmatuojamu (vertinamu pagal RECIST, angl. *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*, 1.118 versiją) ROS1 teigiamu NSLPV, esant funkcinėi būklei 0–2, remiantis ECOG (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*). Tiriamieji buvo įtraukti į vieną iš dviejų pirmosios fazės tyrimų ALKA-372-001 arba STARTRK-1 ir antrosios fazės STARTRK-2 tyrimą. ALKA-372-001 buvo atliekamas dviejuose vėžio gydymo centruose Italijoje. STARTRK-1 vyko dešimtyje vietų: vienoje ligoninėje ir septyniuose vėžio centruose Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV), vienoje ligoninėje Ispanijoje, viename centre Pietų Korėjoje. STARTRK-2 vykdytas daugiau kaip 150 vietų 15 šalių [22, 26]. Į tyrimus buvo įtraukti ir pacientai su besimptomėmis arba gydytomis ir kontroliuojamomis CNS metastazėmis. Naujausi entrektinibo ilgalaikio gydymo veiksmingumo ir saugumo duomenys paskelbti šių metų balandžio 29 d. [27]. Į saugumo analizę įtraukti 134 sergantieji NSLPV, dalis kurių jau buvo gydyti TKI. Saugumo analizės grupė buvo didesnė, nes į ją papildomai įtraukti dar 47 tiriamieji, kurie stebėti < 12 mėn., 27 tiriamieji jau buvo gydyti ROS1 inhibitoriumi (jų duomenys nebuvo įtraukti į tiriamojo vaisto veiksmingumo vertinimą), trys tiriamieji, kurių funkcinė būklė pagal ECOG buvo ≥ 2, ir vienas pacientas, kurio ROS1 biožymens tyrimo rezultatas neaiškus. Taigi, visų šių papildomų pacientų duomenys buvo analizuoti vertinant entrektinibo saugumą (jie gydymui gavo bent vieną dozę entrektinibo), bet nebuvo įtraukti į vaisto veiksmingumo analizę. Įtraukiamų į tyrimą pacientų duomenų gavimo data (angl. *cut-off date*) buvo 2019 m. liepos 31 d., klinikinių duomenų gavimo diena – 2020 m. rugpjūčio 31 d. Veiksmingumo analizei pacientai turėjo būti stebimi bent 12 mėn., praėjus 13 mėn. nuo įtraukimo į tyrimą. Į analizę įtraukti ir pacientai, kurie pasitraukė iš tyrimo anksčiau arba mirė nepraėjus 12 stebėsenos laikotarpio mėnesių [27].

Visų trijų klinikinių tyrimų laikotarpiu pacientai

buvo gydomi kapsuline entrektinibo forma (ALKA-372-001 nevalgius, STARTRK-1 ir STARTRK-2 tyrimuose pavalgis) kartą per dieną. ALKA-372-001 (dozės didinimo tyrimo) pacientai gavo 100 mg, 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1 200 mg arba 1 600 mg; STARTRK-1 tyrimo – 100 mg, 200 mg, 400 mg, 600 mg arba 800 mg; ir STARTRK-2 tyrimo – 600 mg. Entrektinibas buvo skiriamas intermituojamuoju arba nuolatiniu režimu. Visuose tyrimuose gydymas buvo tęsiamas iki patvirtinto radiologinio ligos progresavimo, nepriimtino toksiškumo arba paciento pasitraukimo iš tyrimo. Nepaisant radiologiškai patvirtinto ligos progresavimo, tyrėjo sprendimu gydymas entrektinibu galėjo būti tęsiamas. Kompiuterinės tomografijos arba magnetinio rezonanso tomografijos tyrimai buvo atliekami per patikrą, po keturių, vėliau kas aštuonias savaites. Esant nuo pradžių patvirtintoms CNS metastazėms, per kiekvieną vertinimą buvo atliekami CNS tyrimai. Nesant CNS metastazių, radiologiniai CNS tyrimai buvo atliekami esant klinikinėms indikacijoms arba pagal įprastą kasdienę klinikinę praktiką. Vertinant saugumą, buvo atliekamas objektyvus ištyrimas, laboratoriniai tyrimai, stebimi nepageidaujami poveikiai.

Pagrindinės tyrimų vertinamosios baigtys buvo: 1) objektyvus atsako dažnis (angl. *objective response rate*, ORR), t. y. dalis pacientų, kuriems patvirtintas visiškas arba dalinis atsakas; 2) atsako trukmė (angl. *duration of response*, DoR), t. y. laikas nuo pirmojo objektyvaus atsako patvirtinimo iki pirmojo radiologiškai dokumentuoto ligos progresavimo. Pagrindinės antrinės vertinamosios baigtys buvo išgyvenamumas be ligos progresavimo (laikas nuo pirmosios vaisto dozės iki pirmojo patvirtinto radiologinio ligos progresavimo arba mirties) ir bendrasis išgyvenamumas (laikas nuo suvartotos pirmosios vaisto dozės iki mirties nuo bet kokios priežasties). Papildomi numatyti antriniai tikslai buvo intrakranijinis objektyvus atsako dažnis (pagal RECIST versiją 1.1), intrakranijinė atsako trukmė ir išgyvenamumas be intrakranijinio ligos progresavimo (kai nuo pradžių buvo patvirtintos CNS metastazės). Į STARTRK-2 įtraukti ir pacientai, kuriems liga, gydant krizotinibu, progresavo tik CNS.

## ENTREKTINIBO VEIKSMINGUMAS IR SAUGUMAS

Populiacijoje, kurioje buvo tiriamas entrektinibo veiksmingumas, objektyvus atsako dažnis buvo 68 proc. (n = 114/168; 95 proc. PI: 60,2–74,8), 22 pacientams (13 proc.) nustatytas visiškas atsakas ir 92 (55 proc.) – dalinis. Vidutinis laikas iki atsako atsiradimo buvo 1 mėn. (intervalas 0,7–26,6 mėn.). Daugumoje atvejų, paskyrus gydymą entrektinibu, sumažėjo taikininiai pažeidimai (1 pav.). Tai buvo matoma ir tais atvejais, kai nuo pat pradžių nustatytos CNS metastazės. Bendrasis atsako į gydymą dažnis (su ir be nuo pat pradžių nustatytų CNS metastaza-

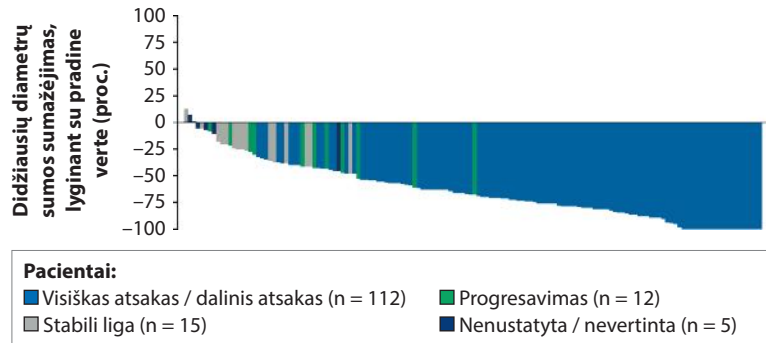
zių) atitinkamai buvo 64 proc. (95 proc. PI: 50,1–76,0) ir 70 proc. (95 proc. PI: 60,5–78,4). Esant atsakui, vidutinė atsako trukmė buvo 20,5 mėn. (95 proc. PI: 14,8–34,8), o 65 proc. pacientų (95 proc. PI: 56–74) atsako trukmė buvo mažiausiai 12 mėn. Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo visoje tiriamųjų populiacijoje buvo 15,7 mėn. (95 proc. PI: 12,0–21,1; 12 mėn. dažnis 57 proc.) (2 pav.), 11,8 mėn. (95 proc. PI: 7,7–15,5), esant nuo pradžių nustatytoms CNS metastazėms, ir 21,1 mėn. (95 proc. PI: 15,1–36,6) be CNS metastazių. Bendrojo išgyvenamumo duomenys dar nevisaverčiai (angl. *immature*). Vidutinis bendrasis išgyvenamumas – 47,8 mėn. (95 proc. PI: 44,1–nenustatyta) ir 12 mėn. bendrojo išgyvenamumo dažnis yra 81 proc. (3 pav.).

48 pacientams nuo pat pradžių nepriklausomas duomenų vertinimo komitetas patvirtino esančias CNS metastazes, iš kurių 25 atvejais jas buvo galima išmatuoti (angl. *measurable disease*). Pastaruoju atveju objektyvus intrakranijinio atsako dažnis buvo 80 proc. (n = 20; 95 proc. PI: 59,3–93,2) (4 pav.), įskaitant tris intrakranijinio visiško atsako atvejus. Intrakranijinis atsakas buvo ilgalaikis, vidutinė atsako trukmė visiems tiriamiesiems, kuriems nuo pat tyrimo pradžios nustatytos CNS metastazės, buvo 12,9 mėn.

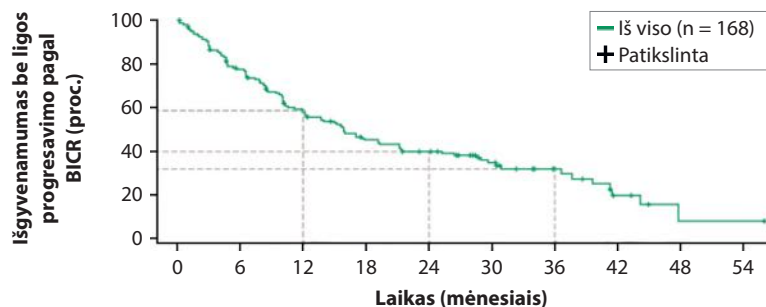
Bendrai į saugumo analizę įtraukti 224 pacientai. Daugumai pacientų nustatytas bent vienas su gydymu susijęs nepageidaujamas poveikis (n = 211, 94 proc.). Dažniausi 1–2 laipsnio nepageidaujami poveikiai buvo disgeuzija (n = 90, 40 proc.), galvos svaigimas (n = 82, 37 proc.) ir konstipacija (n = 71, 32 proc.); dažniausias 3 laipsnio su gydymu susijęs nepageidaujamas poveikis buvo padidėjęs svoris (n = 25, 11 proc.). Ketvirto laipsnio nepageidaujami poveikiai buvo reti. Susijusių su gydymu mirčių nebuvo. Sunkūs nepageidaujami poveikiai buvo registruoti 33 pacientams (15 proc.) ir dažniausias buvo pireksija (n = 4,2 proc.). Kohorteje, kurioje buvo įtraukti pacientai po gydymo krizotinibu, papildomų saugumo signalų arba nepageidaujamų poveikių nebuvo.

## APIBENDRINIMAS

Entrektinibas pasižymi reikšmingu sisteminiu ir intrakranijiniu veiksmingumu gydant sergančiuosius



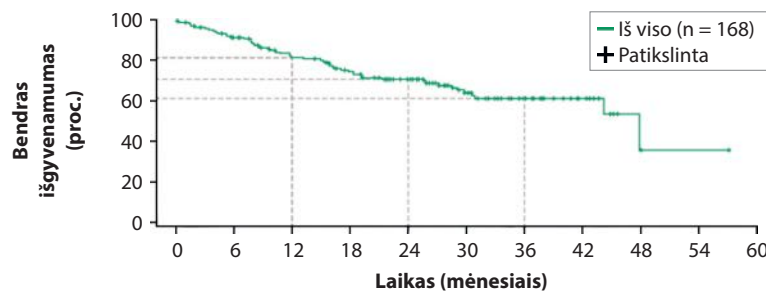
1 pav. Taikinių pažeidimų didžiausių diametrų sumos sumažėjimas



Rizikos grupės pacientai	168	139	121	102	83	76	62	57	47	37	30	19	14	11	6	2	1	1	1
--------------------------	-----	-----	-----	-----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---

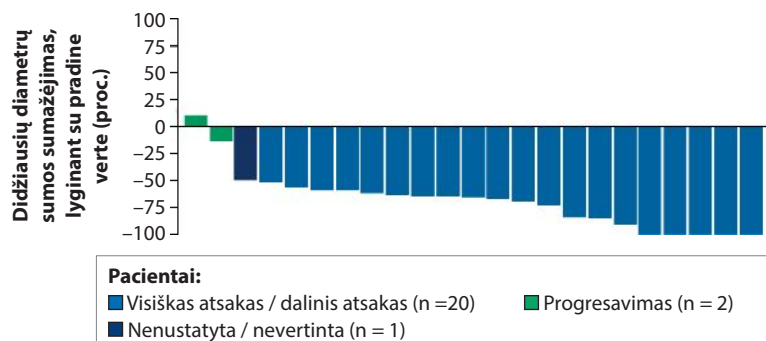
2 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo, skiriant entrektinibą

BICR – akla nepriklausoma centrinė peržiūra (angl. *blinded independent central review*).



Rizikos grupės pacientai	168	156	144	129	120	116	102	93	81	64	51	35	25	16	12	6	1	1	1	1
--------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	----	----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---

3 pav. Bendrasis išgyvenamumas, skiriant entrektinibą



4 pav. Intrakranijinių metastazių sumažėjimas, skiriant entrektinibą

ROS1 teigiamu NSLPV dar negydytus TKI, veikiančiais ROS1. Bendrasis veiksmingumas ir intrakranijinis poveikis gydant pacientus, kuriuos gydant krizotinibu liga progresavo CNS, buvo mažas. Remiantis



# Farmakoterapija

šiais duomenimis, gydytojai turėtų atidžiai vertinti ir pasirinkti gydymo TKI eiliškumą konkreitiems pacientams. Geriausio ROS1 teigiamo NSLPV gydymo efekto pasiekimui, pirmai eilei turėtų būti skiriamas entrektinibas. Šiai pacientų kategorijai entrektinibas prailgina bendrąjį išgyvenamumą.

Šiuo metu yra patvirtinta Europos vaistų agentūros indikacija entrektinibo monoterapiją skirti ROS1 teigiamu išplitusiu NSLPV sergantiems suaugusiems pacientams gydyti, kuriems anksčiau nebuvo skirtas gydymas ROS1 inhibitoriais.

M-LT-00000797

## LITERATŪRA

1. **Bajoriūnas V, Basevičius A, Burkauskas P, Česas A, Dobrovolskienė L, Žemaitis M (redaktorius ir sudarytojas), et al.** Plaučių vėžio diagnostikos, gydymo ir profilaktikos rekomendacijos. 2022. Kaunas. Internetinė prieiga: [https://www.pulmoalerg.lt/wp-admin/admin-post.php?action=preview\\_document&post\\_id=2306](https://www.pulmoalerg.lt/wp-admin/admin-post.php?action=preview_document&post_id=2306)
2. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic Tumours. 5th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2021. Available at: [http://refhub.elsevier.com/S1556-0864\(21\)03316-5/sref1](http://refhub.elsevier.com/S1556-0864(21)03316-5/sref1).
3. **Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema MP, et al.** Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2020; 31(11):1491–505.
4. **Yang P.** Lung cancer in never smokers. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011; 32:10–21.
5. **Deb D, Moore AC, Roy UB.** The 2021 Global Lung Cancer Therapy Landscape. *J Thorac Oncol.* 2022; 17(7):931–6.
6. **Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, Dietel M, Elmberger G, Kerr K, et al.** Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch.* 2016; 469(5):489–503.
7. **Shaw AT, Hsu PB, Awad MM, Engelman JA.** Tyrosine kinase gene rearrangements in epithelial malignancies. *Nat Rev Cancer.* 2013; 13(11):772–87.
8. **Birchmeier C, O'Neill K, Riggs M, Wigler M.** Characterization of ROS1 cDNA from a human glioblastoma cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87(12):4799–803.
9. **Birchmeier C, Sharma S, Wigler M.** Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; 84(24):9270–4.
10. **Charest A, Lane K, McMahon K, Park J, Preisinger E, Conroy H, et al.** Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21). *Genes Chromosomes Cancer.* 2003; 37(1):58–71.
11. **Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, et al.** Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell.* 2007; 131(6):1190–203.
12. **Bergthorn K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al.** ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol.* 2012; 30(8):863–70.
13. **Chin LP, Soo RA, Soong R, Ou SH.** Targeting ROS1 with anaplastic lymphoma kinase inhibitors: a promising therapeutic strategy for a newly defined molecular subset of non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2012; 7(11):1625–30.
14. **McDermott U, Iafrate AJ, Gray NS, Shioda T, Classon M, Maheswaran S, et al.** Genomic alterations of anaplastic lymphoma kinase may sensitize tumors to anaplastic lymphoma kinase inhibitors. *Cancer Res.* 2008;68(9):3389–95.
15. **Davies KD, Doebele RC.** Molecular pathways: ROS1 fusion proteins in cancer. *Clin Cancer Res.* 2013; 19(15):4040–5.
16. **Farago AE, Taylor MS, Doebele RC, Zhu VW, Kummar S, Spira AI, et al.** Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an *NTRK* Gene Fusion. *JCO Precis Oncol.* 2018; 2018:PO.18.0003.
17. **Patil T, Smith DE, Bunn PA, Aisner DL, Le AT, Hancock M, et al.** The Incidence of Brain Metastases in Stage IV ROS1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer and Rate of Central Nervous System Progression on Crizotinib. *J Thorac Oncol.* 2018; 13(11):1717–26.
18. **Gadgeel S, Peters S, Mok T, Shaw AT, Kim DW, Ou SI, et al.** Alectinib versus crizotinib in treatment-naive anaplastic lymphoma kinase-positive (ALK+) non-small-cell lung cancer: CNS efficacy results from the ALEX study. *Ann Oncol.* 2018; 29(11):2214–22.
19. **Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, Yang JC, Han JY, Lee JS, et al.** Brigatinib versus Crizotinib in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018; 379(21):2027–39.
20. **Gainor JF, Tseng D, Yoda S, Dagogo-Jack I, Friboulet L, Lin JJ, et al.** Patterns of Metastatic Spread and Mechanisms of Resistance to Crizotinib in ROS1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2017; 2017:PO.17.00063.
21. **Fischer H, Ullah M, de la Cruz CC, Hunsaker T, Senn C, Wirz T, et al.** Entrectinib, a TRK/ROS1 inhibitor with anti-CNS tumor activity: differentiation from other inhibitors in its class due to weak interaction with P-glycoprotein. *Neuro Oncol.* 2020; 22(6):819–29.
22. **Drilon A, Siena S, Dziadziuszko R, Barlesi F, Krebs MG, Shaw AT, de Braud F, et al.** Entrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol.* 2020; 21(2):261–70.
23. **Drilon A, Siena S, Ou SI, Patel M, Ahn MJ, Lee J, et al.** Safety and Antitumor Activity of the Multitargeted Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor Entrectinib: Combined Results from Two Phase I Trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1). *Cancer Discov.* 2017; 7(4):400–9.
24. **Rolfo C, Ruiz R, Giovannetti E, Gil-Bazo I, Russo A, Passiglia F, et al.** Entrectinib: a potent new TRK, ROS1, and ALK inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs.* 2015; 24(11):1493–500.
25. **Ardini E, Menichincheri M, Banfi P, Bosotti R, De Ponti C, Pulci R, et al.** Entrectinib, a Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor with Activity in Multiple Molecularly Defined Cancer Indications. *Mol Cancer Ther.* 2016; 15(4):628–39.
26. **Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, Siena S, Drilon A, Doebele RC, et al.** Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Locally Advanced or Metastatic ROS1 Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2021; 39(11):1253–63.
27. **Drilon A, Chiu CH, Fan Y, Cho BC, Lu S, Ahn MJ, et al.** Long-Term Efficacy and Safety of Entrectinib in ROS1 Fusion-Positive NSCLC. *JTO Clin Res Rep.* 2022; 3(6):100332.

## Budezonido, glikopironio ir formoterolio derinio veiksmingumas gydant LOPL

EFFICACY OF THE COMBINATION OF BUDESONIDE, GLYCOPYRRONIUM, AND FORMOTEROL IN THE TREATMENT OF COPD

KĘSTUTIS MALAKAUSKAS  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Budezonidas / glikopironis / formoterolis (BUD / GLI / FORM) yra įkvepiamasis fiksuotų dozių gliukokortikoido, ilgai veikiančio muskarino receptorių blokatoriaus (IVMB) ir ilgai veikiančio  $\beta_2$  agonisto (IVBA) derinys, patvirtintas lėtinės obstrukcinės plaučių ligos (LOPL) palaikomajam gydymui. BUD / GLI / FORM sumažino vidutinio sunkumo ir sunkių LOPL paūmėjimų dažnį, pagerino plaučių funkciją labiau nei BUD / FORM ir (arba) GLI / FORM, taip pat pasireiškė dusulį lengvinamuoju ir su sveikata susijusiu gyvenimo kokybę gerinamuoju poveikiu. BUD / GLI / FORM sumažino mirtingumo dėl visų priežasčių riziką. BUD / GLI / FORM buvo gerai toleruojamas, o toleravimo profilis buvo panašus į atskirų šio derinio komponentų. BUD / GLI / FORM yra veiksmingas ir patogus LOPL palaikomojo gydymo pasirinkimas pacientams, kurių liga nepakankamai kontroliuojama naudojant įkvepiamojo gliukokortikoido / LABA arba LAMA / LABA derinį.

**Reikšminiai žodžiai:** budezonidas, glikopironis, formoterolis, lėtinė obstrukcinė plaučių liga, veiksmingumas, mirtingumas.

**Summary.** Budesonide/glycopyrronium/formoterol (BUD/GLY/FORM) is an inhaled fixed-dose combination of the inhaled corticosteroid (ICS), the long-acting muscarinic antagonist (LAMA) and the long-acting  $\beta_2$ -agonist (LABA) approved for the maintenance treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). BUD/GLY/FORM reduced the rates of moderate and severe COPD exacerbations, improved lung function to a greater extent than BUD/FORM and (or) GLY/FORM, demonstrated beneficial effects on dyspnoea and health-related quality of life. BUD/GLY/FORM reduced the risk of all-cause mortality. BUD/GLY/FORM was well tolerated, with the tolerability profile being similar to that of the individual components. BUD/GLY/FORM provides an effective and convenient option for the maintenance treatment of COPD for patients whose disease is inadequately controlled with dual ICS/LABA or LAMA/LABA therapy.

**Keywords:** budesonide, glycopyrronium, formoterol, chronic obstructive pulmonary disease, efficacy, mortality.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1023>

### IVADAS

Lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL) yra besivystanti uždegiminė plaučių liga, kuriai būdinga nuolatinė bronchų obstrukcija ir kvėpavimo simptomai, tokie kaip dusulys, skrepliavimas, kosulys. Pagrindinis LOPL gydymo tikslas – palengvinti simptomus, ligos paūmėjimų sunkumą ir retinti jų dažnį, pagerinti su sveikata susijusią gyvenimo kokybę ir fizinio krūvio toleranciją [1]. LOPL gydyti naudojami įvairūs vaistai, įskaitant bronchus plečiamuosius vaistus, tokius kaip  $\beta_2$  agonistai, muskarino receptorių blokatoriai, metilksantinai, įkvepiamieji gliukokortikoidai (IGK), fosfodiesterazės-4 inhibitorius, mukolitikai. Įkvepiamieji bronchų plečiamieji vaistai yra pagrindiniai vaistai gydant LOPL, pirmenybę teikiant ilgai, o ne trumpai veikiančioms jų formoms [1].

Derinant skirtingo veikimo mechanizmo bronchų plečiamuosius vaistus, tokius kaip ilgai veikiantis  $\beta_2$  agonistas (IVBA) ir ilgai veikiantis muskarino receptorių blokatorius (IVMB), pagerėja bronchų laidumas ir palengvėja simptomai, lyginant su gydymu vienu bronchų plečiamuoju vaistu. Įrodyta, kad gydymas

IGK, IVBA ir IVMB deriniu pagerina plaučių funkciją ir sumažina paūmėjimų riziką sergantiesiems vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL, kuriems būdingi simptomai ir yra buvę dažni ir (arba) sunkūs paūmėjimai. Svarbu tai, kad vaistams įkvėpti naudojant vieną inhaliatorių, o ne kelis atskirus inhaliatorius, pagerėja pacientų gydymo režimo laikymasis.

Budezonido, glikopironio bromido ir formoterolio fumarato derinys (BUD / GLI / FORM) po dvi inhaliacijas du kartus per parą patvirtintas palaikomajam gydymui sergantiesiems vidutine arba sunkia LOPL, kuri nėra tinkamai kontroliuojama IGK / IVBA arba IVBA / IVMB deriniais. BUD / GLI / FOR įkvepiamas iš dozuoto aerosolinio inhaliatoriaus, naudojant aerosferos tiekimo technologiją (*Trixeo Aerosphere*<sup>TM</sup>). Šioje apžvalgoje apibendrinamas BUD / GLI / FORM derinio veiksmingumas ir toleravimas gydant sergančiuosius LOPL.

### BUD / GLI / FOR TERAPINIS VEIKSMINGUMAS

BUD / GLI / FORM derinio veiksmingumas LOPL sergantiesiems vertintas dviejuose pagrindiniuose

atsitiktinių imčių, dvigubai akluose, aktyviai kontroliuotuose, daugianacionaliniuose III fazės tyrimuose: 52 sav. ETHOS ir 24 sav. KRONOS tyrimai [2, 3]. Į šiuos klinikinius tyrimus buvo įtraukti 40–80 metų sergantieji vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL, esant podilataciniam forsuito iškvėpimo tūriui per 1 sek. (FEV<sub>1</sub>) nuo 25 proc. iki 65 proc. norminio dydžio (ETHOS tyrime) arba nuo 25 proc. iki 80 proc. norminio dydžio (KRONOS tyrime), rūkantieji arba metę rūkyti (≥ 10 pakmečių) ir patiriantys kvėpavimo simptomus (LOPL vertinimo testo (CAT) balų suma ≥ 10), nepaisant to, kad tiriamiesiems buvo skiriamas palaikomasis gydymas dviem arba daugiau vaistų ne trumpiau nei 6 sav. prieš atranką į tyrimą. Pacientams, įtrauktiems į ETHOS tyrimą, taip pat turėjo būti ≥ 1 vidutinio sunkumo / sunkus (jei FEV<sub>1</sub> < 50 proc. norminio dydžio) arba ≥ 2 vidutinio sunkumo, arba ≥ 1 sunkus (jei FEV<sub>1</sub> ≥ 50 proc. norminio dydžio) LOPL paūmėjimas per vienus metus iki atrankos. Po atrankos laikotarpio tiriamieji buvo atsitiktinai suskirstyti į grupes: vartojantys įkvėpiamąjį vaistą BUD / GLI / FORM 320 / 18 / 9,6 μg (ETHOS tyrime dar ir 160 / 18 / 9,6 μg), GLI / FORM 18 / 9,6 μg arba BUD / FORM 320 / 9,6 μg. Pirminis ETHOS tyrimo veiksmingumo vertinimas buvo vidutinio sunkumo ir sunkių LOPL paūmėjimų metinis dažnis. KRONOS tyrimo pirminis veiksmingumo vertinimas buvo ir plaučių funkcija: ploto po FEV<sub>1</sub> kreive nuo 0 iki 4 val. (FEV<sub>1</sub> AUC<sub>0-4</sub>) ir rytinio ikidilatacinio FEV<sub>1</sub> pokyčiai per 24 sav. gydymo.

## Paūmėjimai

ETHOS tyrime BUD / GLI / FORM reikšmingai sumažino metinį vidutinio sunkumo ir sunkių LOPL paūmėjimų dažnį, palyginti su GLI / FORM ir BUD / FORM, atitinkamai 24 proc. (p < 0,001) ir 13 proc. (p = 0,003) [2]. Šiuos rezultatus patvirtino ir KRONOS tyrimas [3]. Paūmėjimų retėjimas, susijęs su BUD / GLI / FORM vartojimu, buvo matomas per visus 4 sav. intervalus 52 sav. gydymo laikotarpiu per ETHOS tyrimą ir 24 savaitių gydymo laikotarpiu per KRONOS tyrimą (*post hoc* analizė).

ETHOS tyrimo laikotarpiu BUD / GLI / FORM derinys reikšmingai prailgino laiką iki pirmojo vidutinio sunkumo arba sunkaus LOPL paūmėjimo, palyginti su GLI / FORM (santykinė rizika (SR) 0,88; 95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 0,81–0,96; p = 0,004) ir BUD / FORM (SR 0,89; PI 0,81–0,97; p = 0,006) (1 pav.). Panašūs rezultatai gauti ir KRONOS tyrime, kuomet BUD / GLI / FORM prailgino laiką iki pirmojo vidutinio sunkumo arba sunkaus LOPL paūmėjimo, palyginti su GLI / FORM (SR 0,593; p < 0,0001) ir BUD / FORM (SR 0,747; p = 0,0635).

Tyrimų pogrupių *post hoc* analizė nustatė, kad BUD / GLI / FORM sumažino vidutinio sunkumo arba sunkių LOPL paūmėjimų dažnį, palyginti su GLI / FORM ir BUD / FORM, nepriklausomai nuo sergančiųjų lyties, amžiaus, rasės, geografinio regiono, LOPL paūmėjimų istorijos, CAT balo, ankstesnio IGK vartojimo, bronchų plečiamąjo vaisto poveikio plaučių funkcijai ir podilatacinio FEV<sub>1</sub> [4]. Be to, teigiamas poveikis buvo matomas nepriklausomai nuo pradinio eozinofilų skaičiaus kraujyje, tačiau nustatyta tendencija stiprėti BUD / GLI / FORM poveikiui, didėjant eozinofilų skaičiui [2, 3].

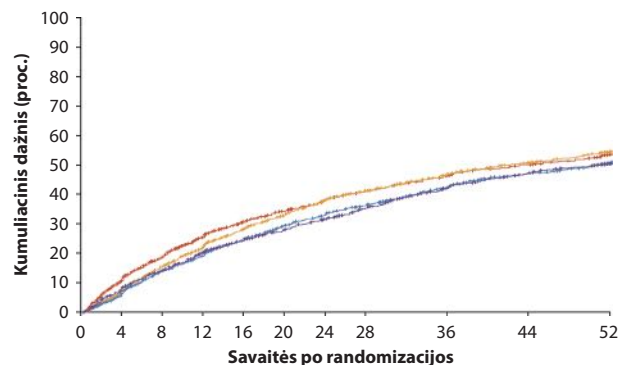
## Plaučių funkcija

ETHOS tyrime per 24 sav. BUD / GLI / FORM reikšmingai padidino FEV<sub>1</sub> AUC<sub>0-4</sub> ir rytinį ikidilatacinį FEV<sub>1</sub>, palyginti su GLI / FORM ir BUD / FORM. Plaučių funkcijos pagerėjimas vartojant BUD / GLI / FORM išliko 52 gydymo savaites [2, 3].

Atliekant tyrimų pogrupių *post hoc* analizės, BUD / GLI / FORM pagerino plaučių funkciją (FEV<sub>1</sub> AUC<sub>0-4</sub> ir rytinį ikidilatacinį FEV<sub>1</sub>), palyginti su GLI / FORM ir BUD / FORM, nepriklausomai nuo lyties, amžiaus, rasės, LOPL paūmėjimų istorijos, CAT balo, ankstesnio IGK vartojimo, bronchų plečiamųjų vaistų poveikio ir podilatacinio FEV<sub>1</sub> [5]. Pacientams, kuriems buvo padidėjęs eozinofilų skaičius kraujyje, nustatyta ryškesnė BUD / GLI / FORM poveikio tendencija, lyginant su GLI / FORM ir BUD / FORM. Pacientams, kurių pradinis eozinofilų skaičius ≥ 0,15 × 10<sup>9</sup>/l, buvo pastebėta didesnė nauda, nei tiems, kuriems eozinofilų skaičius buvo < 0,15 × 10<sup>9</sup>/l.

## Dusulys ir gyvenimo kokybė

ETHOS tyrime BUD / GLI / FORM reikšmingai (p < 0,0001) palengvino dusulį, vertintą pagal pereinamojo dusulio indekso (TDI) balą, ir gyvenimo kokybę,



Pacientų skaičius	2137	1989	1776	1651	1523	1402	1318	1241	1106	996	760
320 μg budesonido trigubas gydymas											
160 μg budesonido trigubas gydymas	2121	1936	1767	1623	1510	1426	1347	1259	1108	985	767
Glikopironis ir formoterolis	2120	1849	1633	1466	1338	1251	1166	1096	988	907	692
Budezonidas ir formoterolis	2131	1935	1721	1564	1410	1300	1196	1119	989	899	678

**1 pav. Vidutinių arba sunkių LOPL paūmėjimų kumuliacinis dažnis [2]**

Abu gydymo trijų vaistų deriniai reikšmingai prailgino laiką iki pirmojo vidutinio arba sunkaus LOPL paūmėjimo, lyginant su gydymu dviejų vaistų deriniais.

# Farmakoterapija

vertintą pagal Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyną, ir šie pagerėjimai išliko visas 52 gydymo savaites [6].

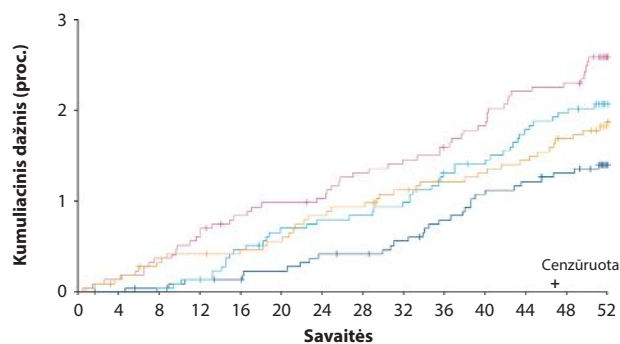
## Mirtingumas dėl visų priežasčių

BUD / GLI / FORM buvo susijęs su sumažėjusia sergančiųjų vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL mirtingumo rizika. ETHOS tyrime BUD / GLI / FORM sumažino mirtingumo dėl visų priežasčių riziką, palyginti su GLI / FORM (SR 0,54; 95 proc. PI 0,34–0,87), o rizika sumažėjo nežymiai, palyginti su BUD / FORM (SR 0,78; 95 proc. PI 0,47–1,30). Šie duomenys atitiko papildomą analizę, atliktą naudojant galutinių duomenų analizę, taip patvirtindami mirtingumo duomenų patikimumą (SR 0,51; 95 proc. PI 0,33–0,80; nekoreguotas  $p = 0,0035$ , palyginti su GLI / FORM ir SR 0,72; 95 proc. PI 0,44–1,16; nekoreguotas  $p = 0,1721$ , palyginti su BUD / FORM) (2 pav.) [7].

Kai BUD / GLI / FORM poveikis laikui iki mirties dėl bet kokios priežasties buvo analizuojamas pagal paūmėjimų istoriją, pradinį pobronchodilatacinį FEV<sub>1</sub> ir anksesnį gydymą arba IGK vartojimą, gydymas trijų vaistų deriniu parodė teigiamą mirtingumo rizikos sumažėjimą, palyginti su gydymu dviejų vaistų deriniais visiems tiriamųjų pogrupiams, išskyrus pacientus, kurie anksčiau nenaudojo IGK (galbūt dėl mažos tiriamųjų imties). BUD / GLI / FORM nauda mažinant mirties riziką buvo ryškiausia pacientams, kuriems per praėjusius metus LOPL paūmėjo  $\geq 2$  kartus arba FEV<sub>1</sub> po bronchų plečiamųjų vaistų buvo  $\geq 50$  proc. norminio dydžio, ir tiems, kurie vartojo trijų vaistų derinį arba IGK. Dažniausia mirties priežastis buvo susijusi su širdies ir kraujagyslių ligomis, o mirčių nuo širdies ir kraujagyslių ligų sumažėjimas lėmė gydymo skirtumus tarp BUD / GLI / FORM ir GLI / FORM grupių [7].

## Toleravimas

ETHOS ir KRONOS tyrimuose BUD / GLI / FORM buvo gerai toleruojamas sergančiųjų vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL [2, 3]. Saugumo profilis buvo panašus į anksčiau nustatytus atskirų šio derinio komponentų saugumo profilius. Per ETHOS tyrimą gydymo sukelti nepageidaujami poveikiai pasireiškė 63,8 proc. iš 2,144 tiriamųjų, vartojusių BUD / GLI / FORM, 61,7 proc. iš 2,125, vartojusių GLI / FORM, ir 64,5 proc. iš 2,136, vartojusių BUD / FORM. Dažniausi ( $\geq 3$  proc.) nepageidaujami povei-

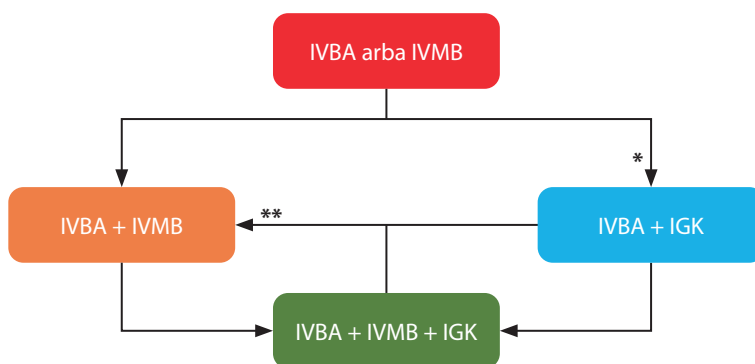


Pacientų skaičius	
BUD / GLI / FORM 320 / 18 / 9,6 µg	2,137 3,126 2,134 2,131 2,130 2,127 2,123 2,122 2,118 2,112 2,106 2,103 2,100 2,075
BUD / GLI / FORM 160 / 18 / 9,6 µg	2,121 2,121 2,120 2,118 2,110 2,104 2,102 2,101 2,098 2,087 2,084 2,076 2,072 2,062
GLI / FORM 18 / 9,6 µg	2,120 2,117 2,112 2,106 2,100 2,097 2,095 2,089 2,086 2,082 2,077 2,069 2,067 2,045
BUD / FORM 320 / 9,6 µg	2,131 2,127 2,122 2,120 2,118 2,116 2,110 2,108 2,102 2,099 2,097 2,094 2,088 2,075

## 2 pav. Mirties dėl visų priežasčių laikas [7]

Mirties rizika vartojant BUD / GLI / FORM 320 / 18 / 9,6 µg buvo žymiai mažesnė nei GLI / FORM 18 / 9,6 µg (santykinė rizika 0,51; 95 proc. pasikliautinis intervalas, 0,33–0,80; nekoreguotas  $p = 0,0035$ ).

BUD / GLI / FORM – budezonidas / glikopironis / formoterolis; GLI / FORM – glikopironis / formoterolis; BUD / FORM – budezonidas / formoterolis.



## 3 pav. Palaikomasis LOPL gydymas įkvėpiamaisiais vaistais (modifikuota pagal [1])

IVBA – ilgai veikiantis  $\beta_2$  agonistas; IVMB – ilgai veikiantis muskarino receptorių blokatorius; IGK – įkvėpiamasis gliukokortikoidas. \*Spręsti dėl IVBA + IGK derinio pasirinkimo, jei eozinofilų skaičius kraujyje  $\geq 0,3 \times 10^9/l$  arba  $\geq 0,1 \times 10^9/l$  ir  $\geq 2$  paūmėjimai / 1 hospitalizacija. \*\*Spręsti dėl IGK nutraukimo, jei nepakankamas poveikis arba kartojasi pneumonijos.

kiai, dažniau pasitaikantys BUD / GLI / FORM nei GLI / FORM ir / arba BUD / FORM grupėse, buvo viršutinių kvėpavimo takų infekcija (5,7 proc., palyginti su 4,8 proc. ir 5,4 proc.), pneumonija (4,6 proc., palyginti su 2,9 proc. ir 5,0 proc.), burnos kandidozė (3,0 proc., palyginti su 1,1 proc. ir 2,7 proc.). Sunkių nepageidaujamų poveikių (19,9 proc., palyginti su 20,4 proc. ir 20,6 proc.) ir gydymo nutraukimo dėl nepageidaujamų poveikių (5,6 proc., palyginti su 6,9 proc. ir 6,6 proc.) dažnis visose gydymo grupėse buvo panašus. Gydymo laikotarpiu iš viso mirė 84 pacientai: 20 pacientų gydytų BUD / GLI / FORM, 35 – GLI / FORM ir 29 – BUD / FORM. Dauguma mirčių įvyko dėl širdies ir kraujagyslių ir kvėpavimo takų priežasčių, bet dauguma šių atvejų nebuvo laikomi susijusiais su gydymu. KRONOS tyrime nustatytų nepageidaujamų poveikių pobūdis ir dažnis atitiko aptiktus ETHOS tyrime.

## APIBENDRINIMAS

Apibendrinant galima teigti, kad BUD / GLI / FORM derinys viename inhaliatoriuje (*Trixeo Aerosphere™*) yra veiksmingas ir gerai toleruojamas sergančiųjų vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL. Todėl BUD / GLI / FORM yra naudinga ir patogi alternatyva palaikomajam LOPL gydymui, įskaitant tuos, kurių liga nepakankamai kontroliuojama naudojant gydymą IGK / IVBA arba IVMA / IVBA deriniais (3 pav.).

*Publikaciją remia kompanija AstraZeneca  
LT-1410-09-22-R&I*

## LITERATŪRA

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. 2022. Available at: <https://goldcopd.org/>.
2. **Rabe KF, Martinez FJ, Ferguson GT, Ferguson GT, Wang C, Singh D, et al.** Triple inhaled therapy at two glucocorticoid doses in moderate-to-very-severe COPD. *N Engl J Med.* 2020; 383(1):35–48.
3. **Ferguson GT, Rabe KF, Martinez FJ, Fabbri LM, Wang C, Ichinose M, et al.** Triple therapy with budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate with co-suspension delivery technology versus dual therapies in chronic obstructive pulmonary disease (KRONOS): a double-blind, parallel-group, multicentre, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2018; 6(10):747–58.
4. **Martinez FJ, Ferguson GT, Bourne E, Ballal S, Darken P, Aurivillius M, et al.** Budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate metered dose inhaler improves exacerbation outcomes in patients with COPD without a recent exacerbation history: a subgroup analysis of KRONOS. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2021; 16:179–89.
5. **Rabe KF, Martinez FJ, Singh D, Trivedi R, Jenkins M, Darken P, et al.** Improvements in lung function with budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate metered dose inhaler versus dual therapies in patients with COPD: a sub-study of the ETHOS trial. *Thorax.* 2021; 76(1):1–13.
6. **Martinez FJ, Rabe KF, Ferguson GT, Wedzicha JA, Trivedi R, Jenkins M, et al.** Benefits of budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate (BGF) on symptoms and quality of life in patients with COPD in the ETHOS trial. *Respir Med.* 2021; 185:106509.
7. **Martinez F, Rabe K, Ferguson G, Wedzicha JA, Singh D, Wang C, et al.** Reduced all-cause mortality in the ETHOS trial of budesonide/glycopyrrolate/formoterol for chronic obstructive pulmonary disease. A randomized, double-blind, multicenter, parallel-group study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020; 203(5):553–64.

# Nintedanibas veiksmingai lėtina FVC mažėjimą gydant sergančiuosius idiopatine plaučių fibroze, kitomis progresuojančiomis fibrozuojančiomis intersticinėmis plaučių ligomis bei su sisteminė skleroze susijusia intersticine plaučių liga

NINTEDANIB HAD CONSISTENT EFFECT ON SLOWING THE RATE OF DECLINE OF FORCED VITAL CAPACITY IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS AND OTHER PROGRESSIVE FIBROSING INTERSTITIAL LUNG DISEASES, AND WITH SYSTEMIC SCLEROSIS-ASSOCIATED LUNG DISEASE

KRISTINA BIEKŠIENĖ  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Nintedanibas – tai priešfibrozinis vaistas, viduląstelinis tirozino kinazės receptorių inhibitorius. Nintedanibas patvirtintas idiopatinės plaučių fibrozės, kitų progresuojančių fibrozuojančių intersticinių plaučių ligų ir su sisteminė skleroze susijusios intersticinės plaučių ligos gydymui. Nintedanibas veiksmingai sulėtino gyvybinės plaučių talpos mažėjimą gydant šias plaučių ligas ir toks poveikis buvo ilgalaikis.

**Reikšminiai žodžiai:** nintedanibas, forsuota gyvybinė plaučių talpa, idiopatinė plaučių fibrozė.

**Summary.** Nintedanib is an antifibrotic drug, an intracellular tyrosine kinase receptor inhibitor. Nintedanib is approved for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis, other progressive fibrosing interstitial lung diseases, and interstitial lung disease associated with systemic sclerosis. Nintedanib effectively slowed the decline in vital lung capacity in the treatment of these lung diseases, and this effect was long-lasting.

**Keywords:** nintedanib, forced vital capacity, idiopathic pulmonary lung fibrosis.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1024>

## IVADAS

Nintedanibas – tai priešfibrozinis vaistas, pirmiausia buvo patvirtintas idiopatinės plaučių fibrozės (IPF) gydymui. IPF yra nežinomos priežasties lėtinė fibrozuojanti intersticinė pneumonija. Jai būdingi radiologiniai ir histologiniai įprastos intersticinės pneumonijos (IIP) požymiai. IPF paprastai serga vyresnio amžiaus asmenys. Jai būdingas stiprėjantis dusulys, plaučių funkcijos blogėjimas ir bloga išgyvenamumo prognozė. IPF diagnozuojama ir gydoma remiantis tarptautinėmis rekomendacijomis. Sėkmingai pritaikius priešfibrozinis vaistus IPF gydymui, pradėti šių vaistų taikymo kitoms fibrozuojančioms intersticinėms plaučių ligoms galimybių tyrimai. Klinikiniai tyrimai parodė teigiamą priešfibrozinis vaistų poveikį gydant

kitas nei IPF intersticines plaučių ligas, pasireiškiančias progresuojančia plaučių fibroze, ir su sisteminė skleroze susijusią intersticinę plaučių ligą [1]. 2022 m. ATS, ERS, JRS ir ALAT (Amerikos torakalistų draugija, Europos respiratologų draugija, Japonijos respiratologų draugija, Lotynų Amerikos torakalistų draugija) paskelbė IPF ir progresuojančios plaučių fibrozės klinikines praktines gaires [1].

Taigi, nintedanibas šiuo metu yra patvirtintas IPF, kitų progresuojančių fibrozuojančių intersticinių plaučių ligų ir su sisteminė skleroze susijusios intersticinės plaučių ligos gydymui. Tačiau Lietuvoje nintedanibas šiuo metu kompensuojamas tik IPF gydymui.

Šiame straipsnyje pateikiami duomenys apie nintedanibo poveikį forsuotos gyvybinės plaučių talpos po-

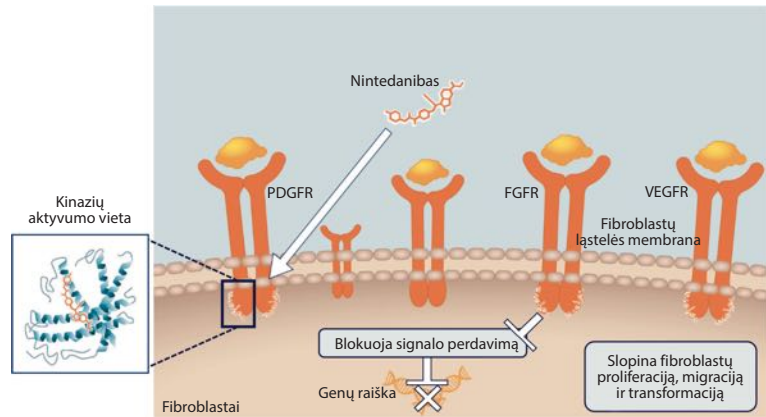
kyčiams gydant IPF, kitas progresuojančias fibrozuojančias intersticines plaučių ligas ir su sisteminė skleroze susijusią intersticinę plaučių ligą.

## NINTEDANIBO VEIKIMO MECHANIZMAS

Nintedanibas blokuoja esminius plaučių fibrozės patogenezės kelius. Nintedanibas yra viduląstelinis tirozino kinazės receptorių inhibitorius, įskaitant trombocitų išskiriamo augimo veiksnio receptorius (angl. *platelet-derived growth factor receptors*, PDGFR) alfa ir beta, fibroblastų augimo veiksnio receptorius (angl. *fibroblast growth factor receptors*, FGFR), kraujagyslių endotelio augimo veiksnio receptorius (angl. *vascular endothelial growth factor receptors*, VEGFR) ir kolonijas stimuliuojamojo veiksnio 1 receptorius (angl. *colony-stimulating factor 1 receptor*, CSF1R); jis taip pat inhibuoja ne receptorių Src šeimos (angl. *non-receptor tyrosine kinase Src family*) tirozino kinazės LCK, LYN ir FLT3 [2–5]. *In vitro* tyrimai parodė, kad nintedanibas slopina daugybę procesų, susijusių su fibrozės vystymusi, įskaitant tirozino kinazės aktyvaciją, profibrozinių mediatorių išsiskyrimą, fibroblastų proliferaciją ir migraciją ir jų transformaciją į miofibroblastus ir tarpląstelinio užpildo (angl. *extracellular matrix*, ECM) sekreciją [4–6]. Tyrimai su gyvūnų plaučių fibrozės modeliais parodė, kad nintedanibas turi antifibrozinį poveikį, neatsižvelgiant į tai, kas sukėlė fibrozę. Gyvūnų modeliuose pastebėtas priešfibrozinis poveikis apima kolageno sumažėjimą plaučiuose ir fibrozinio ploto sumažėjimą, kuris akivaizdžiai matomas plaučių audinio histologiniame tyrime [4–9]. Nintedanibas gyvūnų modeliuose taip pat pasižymėjo ir priešuždegiminiu poveikiu, įskaitant priešuždegiminių mediatorių, limfocitų ir neutrofilų sumažėjimą bronchoalveolinio lavažo skystyje ir uždegimo sumažėjimu plaučių audinyje [4, 5], taip pat ir poveikiu kraujagyslių remodeliacijai [7, 8]. Nintedanibo veikimo mechanizmas vaizduojamas 1 paveiksle. Taigi, bendrai šie duomenys rodo, kad nintedanibas slopina pagrindinius plaučių fibrozės patogenezės procesus ir suteikia priežastį jį vartoti sergantiesiems fibrozuojančia intersticine plaučių liga (IPL) [5].

## NINTEDANIBAS LĒTINA FORSUOTOS GYVYBINĖS PLAUCIŲ TALPOS BLOGĖJIMĄ

Atsitiktinių imčių, placebo kontroliuotų klinikinių tyrimų, kuriuose nintedanibas buvo skiriamas gy-



1 pav. Nintedanibo veikimo mechanizmas

FGFR – (angl. *fibroblast growth factor receptors*) fibroblastų augimo veiksnio receptoriai; PDGFR – (angl. *platelet-derived growth factor receptors*) trombocitų išskiriamo augimo veiksnio receptoriai; VEGFR – (angl. *vascular endothelial growth factor receptors*) kraujagyslių endotelio augimo veiksnio receptoriai.

## 1 lentelė. Pagrindiniai klinikinių tyrimų įtraukimo kriterijai

TOMORROW, INPULSIS-1, INPULSIS-2	INBUILD	SENSCIS
Amžius $\geq$ 40 metų IPF diagnozė nustatyta remiantis 2011 ATS, ERS, JRS, ALAT gairėmis DSGKT IIP būdingi fibrozės požymiai FVC $\geq$ 50 proc. būtiną dydžio D <sub>LCO</sub> 30–79 proc. būtiną dydžio	Amžius $\geq$ 18 metų Difuzinės, fibrozuojančios, kitos nei IPF IPL diagnozė Retikuliniai pokyčiai, trakinės bronhektazės (su arba be korio vaizdo) DSGKT Progresuojanti IPL, vertinant plaučių funkciją, simptomus ir radiologinius vaizdus Fibrozuojanti IPL DSGKT apima $\geq$ 10 proc. FVC $\geq$ 40 proc. būtiną dydžio D <sub>LCO</sub> 30–80 proc. būtiną dydžio	Amžius $\geq$ 18 metų SS diagnozė nustatyta remiantis ACR ir EULAR 2013 m. gairėmis DSGKT su sisteminė skleroze susijusios IPL požymiai Fibrozuojanti IPL DSGKT apima $\geq$ 10 proc. FVC $\geq$ 40 proc. būtiną dydžio D <sub>LCO</sub> 30–89 proc. būtiną dydžio

ACR ir EULAR – Amerikos reumatologų kolegija ir Europos lyga prieš reumatizmą; ATS, ERS, JRS, ALAT (Amerikos torakalistų draugija, Europos respiratologų draugija, Japonijos respiratologų draugija, Lotynų Amerikos torakalistų draugija); DSGKT – didelės skiriamosios gebos kompiuterinė tomografija; FVC – forsota gyvybinė plaučių talpa; D<sub>LCO</sub> – plaučių difuzinis pajėgumas anglies monoksidui; IIP – įprasta intersticinė pneumonija; IPF – idiopatinė plaučių fibrozė; IPL – intersticinė plaučių liga; SS – sisteminė skleroze.

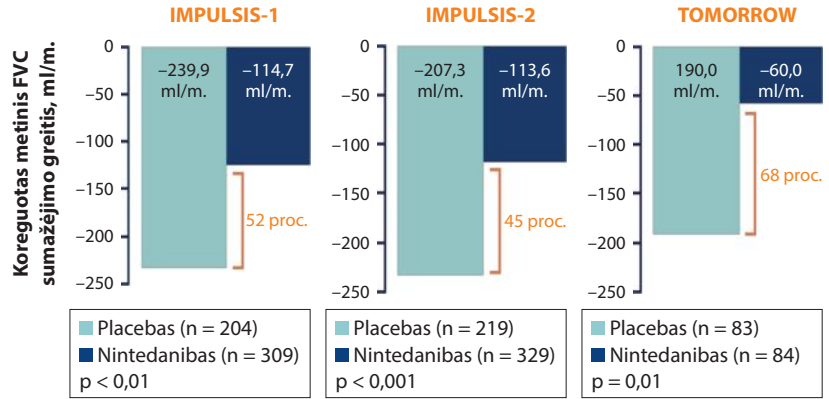
dyti IPF (TOMORROW, INPULSIS-1, INPULSIS-2 tyrimai) [10, 11], kitomis progresuojančiomis fibrozuojančiomis intersticinėmis plaučių ligomis, kurios vystosi nepaisant skiriamo klinikinėje praktikoje priimto gydymo (INBUILD tyrimas) [12, 13], ir su sisteminė skleroze susijusia intersticine plaučių liga (SENSCIS tyrimas) sergančiuosius [14], rezultatai parodė, kad nintedanibas veiksmingai mažina forsotos gyvybinės plaučių talpos (FVC) mažėjimo greitį (2, 3 pav.). Pagrindiniai TOMORROW, INPULSIS-1, INPULSIS-2, INBUILD, SENSCIS tyrimų įtraukimo kriterijai pateikiami 1 lentelėje.

INPULSIS, SENSCIS ir INBUILD klinikinių tyrimų metaanalizės duomenys parodė, kad 52 savaites gydant nintedanibu, FVC (ml/m.) mažėjimo greitis sulėtėjo 51,0 proc. (95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 39,1–63,0), lyginant su placebo (3 pav.)

# Farmakoterapija

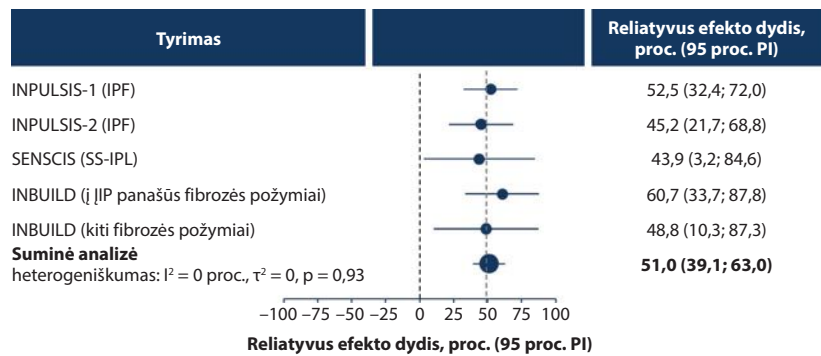
[15]. Nors INBUILD tyrimo dizainas nebuvo sukurtas vertinti atskiroms IPL, pogrūpių analizės duomenys parodė, kad FVC mažėjimo dydis ir nintedanibo poveikis FVC mažėjimo greičiui per 52 gydymo savaites buvo panašus pagrindiniuose diagnostiniuose pogrūpiuose: hipersensityvusis pneumonitas, su autoimunine liga susijusi IPL, idiopatinė nespecifinė intersticinė pneumonija, neklasifikuojama IPL, kitos fibrozuojančios IPL [13, 16]. Vėlesni šių klinikinių tyrimų pogrūpių analizės rezultatai parodė, kad gydymas nintedanibu buvo veiksmingas nepriklausomai nuo amžiaus, lyties, rasės, pradinio FVC dydžio procentais (4 pav.) [14, 17–19], naudojamų IPF diagnostinių kriterijų [20] arba sisteminės sklerozės pogrūpių (lokali odos liga arba difuzinis odos pažeidimas) [14].

Palyginamieji INPULSIS ir INSTAGE tyrimų duomenys, kuriuose dalyvavo IPF sergantieji, parodė, kad nintedanibas veiksmingai sulėtina FVC mažėjimą (ml/m.), nepriklausomai nuo pradinio plaučių dujų difuzijos sutrikimo dydžio. INSTAGE tyrimo vienas iš įtraukimo kriterijų



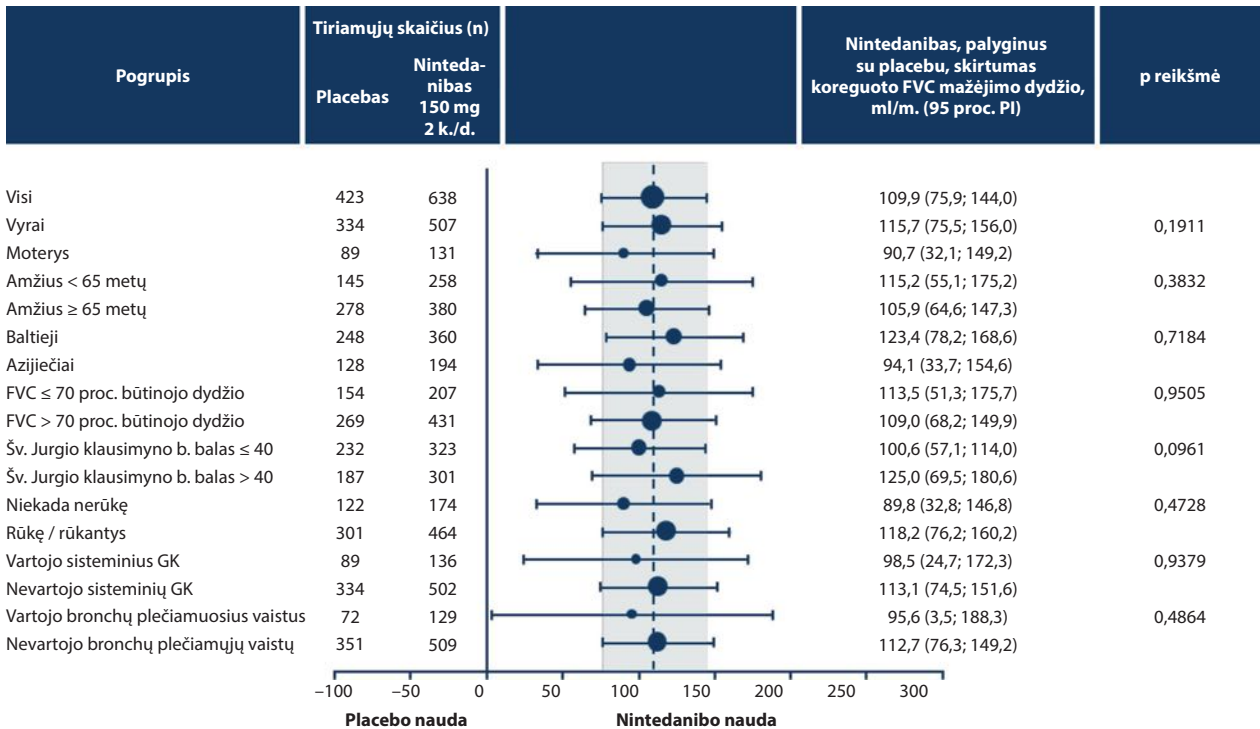
2 pav. Nintedanibas IPF sergantiesiems veiksmingai sumažina metinį FVC mažėjimą, lyginant su placebo

FVC – gyvybinė plaučių talpa.



3 pav. Nintedanibas veiksmingai sulėtina FVC mažėjimą gydant ir kitas fibrozuojančias IPL

FVC – gyvybinė plaučių talpa; JIP – įprastinė intersticinė pneumonija; IPF – idiopatinė intersticinė pneumonija; PI – pasikliautinis intervalas; SS-IPL – su sistetine skleroze susijusi intersticinė plaučių liga.



4 pav. Nintedanibo veiksmingumas lėtinant FVC mažėjimą nepriklauso nuo IPF sergančiųjų savybių

FVC – forsuta gyvybinė plaučių talpa; GK – gliukokortikoidai; PI – pasikliautinis intervalas; b. balas – bendrasis balas.



buvo dujų difuzijos sumažėjimas 35 proc. ir mažiau būtinojo dydžio. FVC pokytis po 24 savaičių gydymo nintedanibu INSTAGE tyrime buvo panašus kaip ir INPULSIS tyrime, kuriame dalyvavusių pacientų plaučių difuzinis pajėgumas anglies monoksidui ( $D_{LCO}$ ) buvo sutrikęs mažiau (5 pav.) [21, 22].

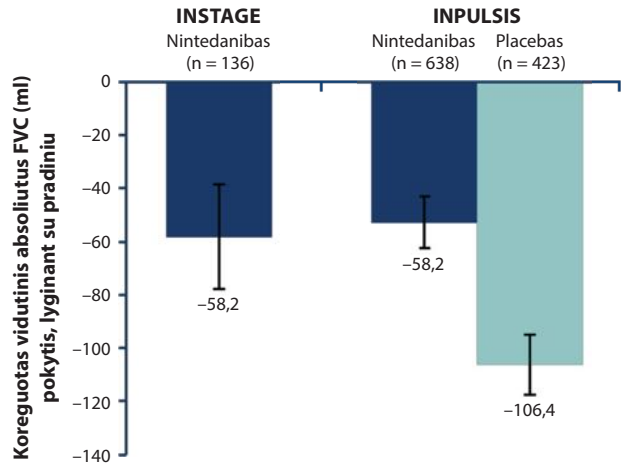
INBUILD tyrime FVC sumažėjimas (ml/m.) per 52 savaites buvo didesnis pacientams, kurių didelės skiriamosios gebos kompiuterinėje tomografijoje (DSGKT) buvo į IIP panašūs fibrozės požymiai, nei tiems, kurių DSGKT buvo kitų fibrozės požymių. Placebo grupėje FVC metinis sumažėjimas buvo  $-211 \pm 20,5$ , palyginti su  $-154,2 \pm 21,2$  ml/m. Nors metinis FVC mažėjimo greitis buvo žymus, gydant nintedanibu jo veiksmingumas buvo vienodas, nepriklausomai nuo pokyčių DSGKT ( $-82,9 \pm 20,8$ , palyginti su  $79,0 \pm 21,6$  ml/m.,  $p > 0,05$ ) [16, 23].

Tyrimai INPULSIS-ON ir SENSCIS-ON, kurie yra tyrimų INPULSIS ir SENSCIS atviri pratęsimai, parodė, kad nintedanibo veiksmingumas, lėtinant FVC mažėjimą, yra ilgalaikis [24, 25]. INPULSIS-ON tyrime, kuriame IPF sergantieji tęsė arba naujai pradėjo naudoti nintedanibą, FVC metinis mažėjimo dažnis buvo toks pat kaip ir INPULSIS tyrime (6 pav.) [24].

## FVC IR GYVENIMO KOKYBĖ

Klinikinių nintedanibo tyrimų metu su sveikata susijusios gyvenimo kokybės pokyčių vertinimui buvo panaudota įvairių klausimynų. INPULSIS ir SENSCIS tyrimų nintedanibo ir placebo grupėse su sveikata susijusios gyvenimo kokybės pokyčiai per 52 savaites, vertinti naudojant Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyną, buvo nedideli ir reikšmingų skirtumų tarp gydymo grupių nebuvo [11, 14]. Tačiau *post hoc* INPULSIS tyrimų duomenų analizė parodė, kad per 52 savaites pacientams, kurių FVC sumažėjo  $> 5$  proc., bendras Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balas pablogėjo labiau nei pacientų, kurių FVC sumažėjo  $\leq 5$  proc. (2 lentelė) [26]. Panašūs ir SENSCIS tyrimo duomenys – pacientams, kurių FVC sumažėjo  $> 5$  proc., bendras Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balas pablogėjo labiau nei pacientams, kurių FVC pagerėjo (7 pav.) [27]. Be to, *post hoc* INPULSIS tyrimų duomenų analizė parodė, kad nintedanibas turėjo didesnę teigiamą naudą bendram Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balui pacientams, kurių liga pradžioje buvo labiau pažengusi. Pacientų, kurių  $D_{LCO}$  buvo  $\leq 40$  proc. būtinojo dydžio, bendras Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balas buvo 42,5, o kurių  $> 40$  proc. būtinojo dydžio, bendras balas

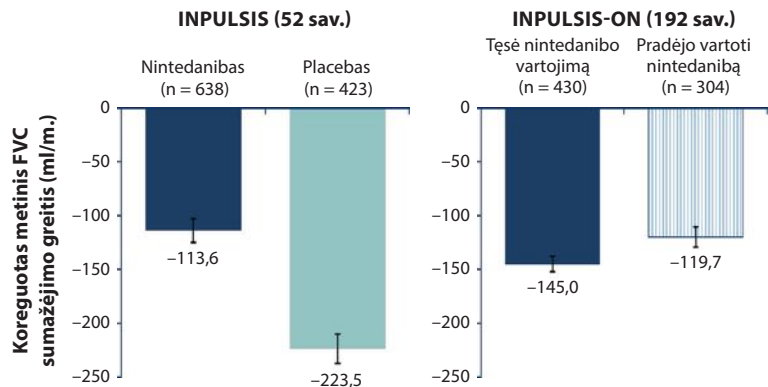
buvo 35,2 ( $p < 0,0001$ ) [26]. Tai patvirtina hipotezę, kad FVC mažėjimo greičio lėtėjimas turi teigiamą poveikį su sveikata susijusiai gyvenimo kokybei, ypač vėlesnėje IPF eigoje, kai pacientams lieka mažiau fiziologinių rezervų.



5 pav. Nintedanibo poveikis FVC mažėjimui, priklausomai nuo pradinio  $D_{LCO}$

Vienas iš įtraukimo kriterijų INSTAGE tyrime buvo  $D_{LCO} \leq 35$  proc. būtinojo dydžio.

$D_{LCO}$  – plaučių difuzinis pajėgumas anglies monoksidui; FVC – forsuota gyvybinė plaučių talpa.



6 pav. Nintedanibo ilgalaikis veiksmingumas lėtinant FVC mažėjimą

FVC – forsuota gyvybinė plaučių talpa.

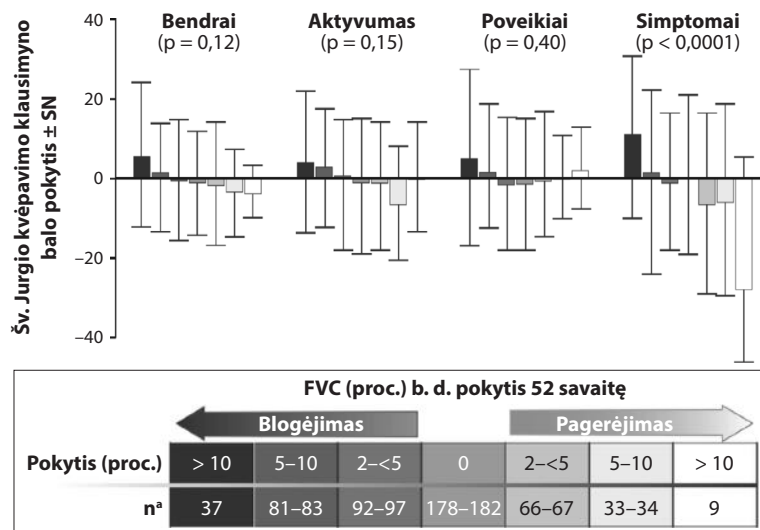
2 lentelė. Vidutinis Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balo pokytis po 52 savaičių, lyginant su pradiniu, pagal FVC sumažėjimo grupes (sumažėjo  $\leq 5$  proc., sumažėjo  $> 5$ , bet  $\leq 10$  proc., arba  $> 10$  proc. būtinojo dydžio)

	Vidutinis pokytis po 52 savaičių, lyginant su pradiniu		
	FVC sumažėjo $\leq 5$ proc.	FVC sumažėjo $> 5$ , bet $\leq 10$ proc.	FVC sumažėjo $> 10$ proc.
Šv. Jurgio klausimyno bendras balas	-0,18 (n = 477)	4,84** (n = 194)	13,10***, † (n = 152)
Šv. Jurgio klausimyno simptomų balas	-2,39 (n = 492)	7,46*** (n = 198)	9,40*** (n = 155)
Šv. Jurgio klausimyno aktyvumo balas	0,78 (n = 486)	5,75** (n = 196)	15,58***, † (n = 154)
Šv. Jurgio klausimyno poveikio balas	0,28 (n = 482)	4,02* (n = 198)	13,15***, † (n = 153)

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,0001$ , palyginti su grupe, kur FVC sumažėjo  $\leq 5$  proc. † $p < 0,01$  ir ‡ $p < 0,0001$ , palyginti su grupe, kurioje FVC sumažėjo  $> 5$ , bet  $\leq 10$  proc. FVC – forsuota gyvybinė plaučių talpa.

## APIBENDRINIMAS

Nintedanibas yra viduląstelinis tirozino kinazės receptorių inhibitorius. Nintedanibas blokuoja esminius plaučių fibrozės patogenezės kelius, o taip pat pasižymi ir priešuždegiminiu poveikiu. Atsitiktinių imčių, placebo kontroliuoti klinikiniai tyrimai įrodė nintedanibo veiksmingumą mažinant FVC mažėjimo greitį, gydant IPF, kitomis progresuojančiomis fibrozuojančiomis IPL, kurios vystosi nepaisant skiriamo klinikinėje praktikoje priimto gydymo, ir su sistetine skleroze susijusia IPL sergančiuosius. Šis nintedanibo poveikis nepriklausė nuo IPL, FVC, D<sub>LCO</sub> dydžio pradėjus gydyti nintedanibu, lyties, amžiaus, rasės, fibrozės požymių DSGKT. Gydant nintedanibu įvairaus spektro fibrozuojančias IPL, FVC mažėjimą lėtinantis jo poveikis buvo ilgalaikis. FVC mažėjimo greičio lėtėjimas gydant nintedanibu turi teigiamą poveikį su sveikata susijusiai gyvenimo kokybei.



**7 pav. Šv. Jurgio kvėpavimo klausimyno balo pokytis po 52 savaičių gydant nintedanibu su sistetine skleroze susijusią IPL, pagal FVC proc. būtiną dydžio pokytį**

FVC – forsuoja gyvybinė plaučių talpa; IPL – intersticinė plaučių liga; SN – standartinis nuokrypis; b. d. – būtinasis dydis, n<sup>a</sup> – pacientų, turėjusių tyrimo duomenis kiekvienoje pokyčio kategorijoje, skaičius buvo kintamas, todėl rodomas intervalas.

## LITERATŪRA

- Raghu G, Remy-Jardin M, Richeldi L, Thomson CC, Inoue Y, Johkoh T, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults: an official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022; 205(9):18–47.
- Hilberg F, Roth GJ, Krssak M, Kautschitsch S, Sommergruber W, Tontsch-Grunt U, et al. BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res.* 2008; 15;68(12):4774–82.
- Hilberg F, Tontsch-Grunt U, Baum A, Le AT, Doebele RC, Lieb S, et al. Triple angiokinase inhibitor nintedanib directly inhibits tumor cell growth and induces tumor shrinkage via blocking oncogenic receptor tyrosine kinases. *J Pharmacol Exp Ther.* 2018; 364(3):494–503.
- Wollin L, Maillat I, Quesniaux V, Holweg A, Ryffel B. Anti-fibrotic and anti-inflammatory activity of the tyrosine kinase inhibitor nintedanib in experimental models of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014; 349(2):209–20.
- Wollin L, Wex E, Pautsch A, Schnapp G, Hostettler KE, Stowasser S, et al. Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2015; 45(5):1434–45.
- Hostettler KE, Zhong J, Papakonstantinou E, Karakioulakis G, Tamm M, Seidel P, et al. Anti-fibrotic effects of nintedanib in lung fibroblasts derived from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2014; 12;15(1):157.
- Ackermann M, Kim YO, Wagner WL, Schuppan D, Valenzuela CD, Mentzer SJ, et al. Effects of nintedanib on the microvascular architecture in a lung fibrosis model. *Angiogenesis.* 2017; 20(3):359–72.
- Huang J, Maier C, Zhang Y, Soare A, Dees C, Beyer C, et al. Nintedanib inhibits macrophage activation and ameliorates vascular and fibrotic manifestations in the Fra2 mouse model of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76(11):1941–8.
- Redente EF, Aguilar MA, Black BP, Edelman BL, Bahadur AN, Humphries SM, et al. Nintedanib reduces pulmonary fibrosis in a model of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2018; 1;314(6):L998–1009.
- Richeldi L, Costabel U, Selman M, Kim DS, Hansell DM, Nicholson AG, et al. Efficacy of a tyrosine kinase inhibitor in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2011; 22; 1079–87.
- Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, Azuma A, Brown KK, Costabel U, et al. INPULSIS Trial Investigators. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2014; 29;2071–82.
- Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Inoue Y, Richeldi L, et al. Effects of nintedanib on progression of ILD in patients with fibrosing ILDs and a progressive phenotype: further analyses of the INBUILD trial. *Eur Respir J.* 2020; 56(64):4578.
- Wells AU, Flaherty KR, Brown KK, Inoue Y, Devaraj A, Richeldi L, et al. INBUILD trial investigators. Nintedanib in patients with progressive fibrosing interstitial lung diseases - subgroup analyses by interstitial lung disease diagnosis in the INBUILD trial: a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *Lancet Respir Med.* 2020; 8(5):453–60.
- Distler O, Highland KB, Gahlemann M, Azuma A, Fischer A, Mayes MD, et al. SENSICIS Trial Investigators. Nintedanib for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *N Engl J Med.* 2019; 27;380(26):2518–28.
- Bonella F, Maher TM, Cottin V, Valenzuela C, Wijsenbeek M, Voss F, et al. Consistent effect of nintedanib on reducing FVC decline across interstitial lung diseases (ILDs). *Eur Respir J.* 2020; 56(64):739.
- Brown KK, Martinez FJ, Walsh SLF, Thannickal VJ, Prasse A, Schlenker-Herceg R et al. The natural history of progressive fibrosing interstitial lung diseases. *Eur Respir J.* 2020; 25;55(6):2000085.
- Costabel U, Inoue Y, Richeldi L, Collard HR, Tschoepe I, Stowasser S, et al. Efficacy of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis across prespecified subgroups in INPULSIS. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016; 15;193(2):178–85.
- Kolb M, Richeldi L, Behr J, Maher TM, Tang W, Stowasser S, et al. Nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and preserved lung volume. *Thorax.* 2017; 72(4):340–6.
- Kolb M, Flaherty KR, Silva RS, Prasse A, Patel N.M, Vancheri, C et al. Effect of nintedanib in patients with progressive fibrosing interstitial lung diseases: subgroup analyses from the INBUILD trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020; 201:A4555.
- Raghu G, Wells AU, Nicholson AG, Richeldi L, Flaherty KR, Le Maulf F, et al. Effect of nintedanib in subgroups of idiopathic pulmonary fibrosis by diagnostic criteria. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017; 195(1):78–85.
- Richeldi L, Kolb M, Jouneau S, Wuyts WA, Schinzel B, Stowasser S, et al. Efficacy and safety of nintedanib in patients with advanced idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulm Med.* 2020; 8;20(1):3.

22. Kolb M, Raghu G, Wells AU, Behr J, Richeldi L, Schinzel B, et al. INSTAGE Investigators. Nintedanib plus sildenafil in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2018; 379(18):1722–31.
23. Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SLE, Inoue Y, et al. INBUILD Trial Investigators. Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases. *N Engl J Med*. 2019 31; 381(18):1718–27.
24. Crestani B, Huggins JT, Kaye M, Costabel U, Glaspole I, Ogura T, et al. M. Long-term safety and tolerability of nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: results from the open-label extension study, INPULSIS-ON. *Lancet Respir Med*. 2019; 7(1):60–8.
25. Allamore Y, Vonk MC, Distler O, Azuma A, Mayes MD, Gahlemann M, et al. Continued treatment with nintedanib in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: data from SENSICIS-ON. *Ann Rheum Dis*. 2022:an-rheumdis-2022-222564.
26. Kreuter M, Wuyts WA, Wijsenbeek M, Bajwah S, Maher TM, Stowasser S, et al. Health-related quality of life and symptoms in patients with IPF treated with nintedanib: analyses of patient-reported outcomes from the INPULSIS® trials. *Respir Res*. 2020; 30;21(1):36.
27. Kreuter M, Hoffmann-Vold A, Matucci-Cerinic M, Saketkoo L, Highland K, Wilson H, et al. Health-related quality of life in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: impact of lung function on patient-reported outcomes in a randomized Phase III trial. *Arthritis Rheumatol*. 2019; 71:A1656.

## LOPL gydymo optimizavimo svarba ir aklidinio / formoterolio veiksmingumas

IMPORTANCE OF OPTIMIZING COPD THERAPY AND EFFICACY OF ACLIDINIUM / FORMOTEROL

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL) yra dažna sergamumo ir mirtingumo priežastis visame pasaulyje. Patiriami kvėpavimo simptomai, apribota kasdienė veikla ir pomėgiai keičia gyvenimo kokybę. Nevaldomi ligos simptomai, paūmėjimai tarsi sukuria užburtą ratą ligai sparčiau vystytis. Ligos valdymui tenka reikšminga sveikatos priežiūros išlaidų dalis. Todėl būtina savalaikiai optimizuoti LOPL gydymą, valdyti ligos simptomus, retinti paūmėjimus, sulėtinti ligos vystymąsi ir užkirsti kelią komplikacijoms. Pernelyg didelis trumpo veikimo  $\beta_2$  agonistų vartojimas yra susijęs su ligos sunkumu ir simptomais, padidėjusia paūmėjimų rizika ir yra ženklas, kad nuolatinis medikamentinis gydymas turi būti peržiūrimas ir optimizuojamas. Nesant dažnų paūmėjimų, bet esant išreikštiems simptomams, tikslingas gydymas ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistu / ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistu deriniu. Vienas naujausių LOPL gydymui skiriamų derinių yra aklidinio bromidas ir formoterolio fumaratas, kurio veiksmingumas ir saugumas įrodytas didelės apimties tyrimais. Išsamesni duomenys pateikiami straipsnyje.

**Reikšminiai žodžiai:** LOPL, pernelyg dažnas TVBA vartojimas, kardiovaskulinis saugumas, aklidinio / formoterolio veiksmingumas.  
**Summary.** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common cause of morbidity and mortality worldwide. Respiratory symptoms, limiting daily activities and hobbies, alter the quality of life. Uncontrolled disease symptoms and exacerbations create a vicious circle for faster disease progression. Disease management accounts for a significant part of health care costs. Therefore, it is necessary to optimize the treatment of COPD on time, manage the symptoms of the disease, reduce exacerbations, slow down the progression of the disease and prevent complications. Excessive use of short-acting beta-2 agonists is associated with disease severity and symptoms, increased risk of exacerbations, and is a sign that ongoing medical treatment should be reviewed and optimized. In the absence of frequent exacerbations but with persistent and progressive respiratory symptoms, long-acting muscarinic receptor antagonist / long-acting beta-2 agonist combination treatment is appropriate. One of the newest combinations for the treatment of COPD is aclidinium bromide and formoterol fumarate, which has been shown to be effective and safe in large-scale studies. More detailed data is provided in the article.

**Keywords:** COPD, SABA overuse, cardiovascular safety, efficacy of aclidinium / formoterol.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1025>

### IVADAS

Lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL) yra dažna sergamumo ir mirtingumo priežastis visame pasaulyje. Pasaulio sveikatos organizacijos duomenimis, tai buvo trečia pagrindinė mirties priežastis 2019 m., nusinešusi 3,23 mln. gyvybių [1]. Plečiantis ir jaunėjant rūkančiųjų populiacijai, ligos pasireiškimo dažnis taip pat didėja. Patiriami kvėpavimo simptomai, apribota kasdienė veikla ir pomėgiai keičia gyvenimo kokybę. Nevaldomi ligos simptomai, paūmėjimai tarsi sukuria užburtą ratą ligai sparčiau progresuoti. Ligos valdymui tenka reikšminga sveikatos priežiūros išlaidų dalis. Todėl būtina savalaikiai optimizuoti LOPL gydymą, valdyti ligos simptomus, retinti paūmėjimus, sulėtinti ligos vystymąsi ir užkirsti kelią komplikacijoms. Visuotinėje lėtinės obstrukcinės plaučių ligos iniciatyvoje (angl. *Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, GOLD) rekomenduojamas individualizuotas

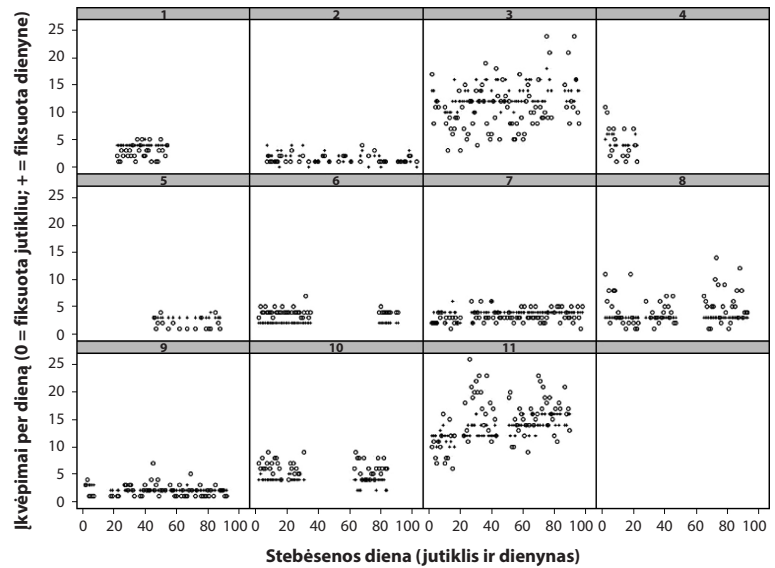
LOPL gydymas, kuris turėtų būti parenkamas kompleksškai atsižvelgiant į juntamus simptomus, ligos sunkumą, paūmėjimų riziką, galimus nepageidaujamus poveikius, esamas gretutines ligas ir, žinoma, paties paciento teikiamus prioritetus [2]. Straipsnyje apžvelgiami vieni pagrindinių klausimų, kylančių skiriant arba koreguojant LOPL gydymą, sergant vidutinio sunkumo ir sunkia LOPL, ir gydymo dviejų bronchų plečiamųjų vaistų aklidinio bromido ir formoterolio fumarato deriniu veiksmingumas ir saugumas.

### PER DAŽNAI VARTOJAMI GREITO VEIKIMO SIMPTOMUS SLOPINAMIEJI VAISTAI IR NUOLATINIO MEDIKAMENTINIO GYDymo PERŽIŪROS SVARBA

Gana plačiai kalbama apie pernelyg dažną trumpo veikimo  $\beta_2$  agonistų (TVBA) vartojimą ir iš to kylančią žalą sergant astma. Ta pati problema egzistuoja ir

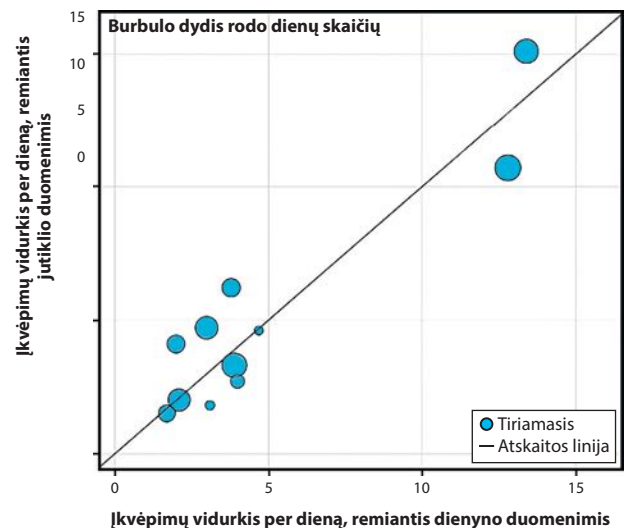
sergant LOPL [3–5]. Atliktas perspektyvinis 3 mėn. kohortinis tyrimas, kuriame dalyvavo sergantieji vidutinio sunkumo ir sunkia LOPL [3]. Įtraukimo kriterijai: 1) nustatyta LOPL diagnozė, 2) forsutas iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę ( $FEV_1$ ) / forsuta gyvybinė plaučių talpa (FVC) < 0,70 ir  $FEV_1 \leq 80$  proc., 3) vartoja TVBA, 4) rūkymo stažas > 10 pakmečių, tačiau nerūkantys įtraukimo laikotarpiu, 5) amžius > 40 metų, 6) per keturias savaites iki įtraukimo į tyrimą nebuvo ligos paūmėjimų. Neįtraukimo kriterijai buvo: 1) klinikinė astmos diagnozė, 2) tiriamieji, kuriems reikia pagalbos vaikščiojant, 3) dusulio balas 4 pagal Medicinos tyrimų tarybos modifikuotą dusulio vertinimo skalę (angl. *Modified Medical Research Council*, mMRC) („pernelyg didelis dusulys, kad būtų galima išeiti iš namų, arba dusulys vargina rengiantis“). Iš viso įvairiose analizėse dalyvavo 32 tiriamieji. Kiekvienam tiriamajam buvo skiriamas specialus nešiojamas elektroninis jutiklis, skirtas naudoti su inhaliatoriumi, kad būtų galima stebėti TVBA suvartojimą. Tiriamieji naudojo žingsniamatį, kasdien pildė juntamų simptomų ir inhaliuojamų vaistų suvartojimo dienyną. Per didelis TVBA vartojimas buvo apibrėžtas kaip > 8 inhaliacijos per dieną, jei nėra klinikinės būklės, kai toks vartojimas būtų paaiškinamas. Apibendrinus tyrimo duomenis nustatyta, kad iš 32 tyrimo dalyvių 15 bent vieną kartą pernelyg dažnai vartojo TVBA (vidutiniškai  $8,6 \pm 5,0$  įkvėpimų per dieną), o 6 tiriamieji – daugiau nei 50 proc. stebėsenos dienų (1, 2 pav.). Palyginti su tais, kurie neviršijo 8 TVBA inhaliacijų per dieną, viršijusieji jautė didesnę dusulį (pagal mMRC skalę jis buvo 2,7, palyginti su 1,9,  $p = 0,02$ ), dažniau vartojo deguonį namuose (67 proc., palyginti su 29 proc.,  $p = 0,04$ ) ir dažniau vartojo maksimalų gydymą inhaliatoriais (ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistas (IVBA), ilgo veikimo muskarino receptorių antagonistas (LAMA) ir įkvėpiamasis gliukokortikoidas (IGK): 40 proc., palyginti su 6 proc.,  $p = 0,03$ ), ir daugumai buvo taikytas reabilitacinis gydymas (67 proc., palyginti su 0 proc.,  $p < 0,001$ ). Pastebėta, kad beveik trečdalis (27 proc.) pernelyg daug TVBA vartojusių pacientų buvo gydomi ne pagal LOPL gydymo rekomendacijas [3, 4]. Visi šie rezultatai leidžia daryti išvadą, kad pernelyg didelis TVBA vartojimas tiriamųjų populiacijoje buvo dažnas radinys ir buvo susijęs su ligos sunkumu ir simptomais, nepaisant didžiausio inhaliacino gydymo ir taikytos reabilitacijos.

Be to, pernelyg didelis TVBA vartojimas yra ženklas, kad LOPL pacientai turi padidėjusią paūmėjimų riziką, turi būti peržiūrimas ir koreguojamas nuolatinis LOPL gydymas [2, 3, 5]. Atliktas tyrimas, kurio metu retro-



**1 pav. TVBA įkvėpimai (11-os tiriamųjų): elektroninis jutiklis, palyginti su dienos duomenimis [3]**

TVBA – trumpo veikimo  $\beta_2$  agonistas.



**2 pav. Vidutinis TVBA įkvėpimų skaičius per dieną (11-os tiriamųjų duomenys): jutiklio ir dienos duomenys [3]**

TVBA – trumpo veikimo  $\beta_2$  agonistas.

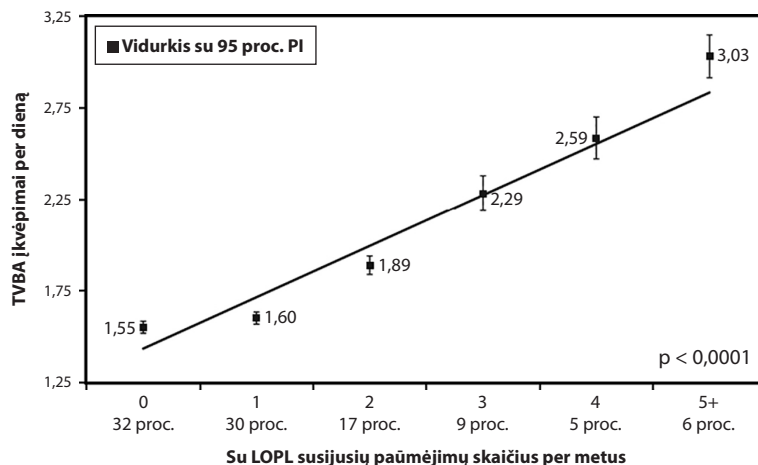
spektyviai vertintos sąsajos tarp TVBA vartojimo, LOPL paūmėjimų ir sveikatos priežiūros išlaidų per vienerius metus [5]. Tyrimo dalyvavo pacientai, kuriems nustatyta LOPL, yra medicininiuose įrašuose fiksuotas TVBA vartojimas vieno metų laikotarpiu, įtraukimo metu ne jaunesni kaip 40 metų. Į tyrimą neįtraukti pacientai, jei 90 dienų iki įtraukimo dėl LOPL paūmėjimo buvo gydomi stacionare arba įtraukimo dieną, stebėsenos laikotarpiu buvo paskirtas ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistas (IVBA) per purkštuvą. TVBA, vartojamų tiek per purkštuvą, tiek per suspausto oro dozuoto aerozolio inhaliatorių, dozė buvo normalizuota atitinkamai iki 2,5 mg ir 90  $\mu$ g albuterolio ekvivalentų. GOLD nurodo, kad jau du paūmėjimus per metus patiriantys pacientai turi

# Farmakoterapija

sunkesnės ligos eigos riziką [2]. Įvertinus tyrimo duomenis, nustatytas ryšys tarp 1,5 TVBA įkvėpimo per dieną ir tokio dažnio paūmėjimų rizikos ( $p < 0,0001$ ). Tyrimo populiacija buvo išties didelė – 56 581 tiriamųjų iš ORD duomenų bazės ir 9 423 tiriamieji iš IMPACT tyrimo duomenų bazės. LOPL paūmėjimai vertinti vienu metų stebėsenos laikotarpiu. Tyrimui naudotoje duomenų bazėje pacientai, atlikę  $\geq 1,5$ , palyginti su  $< 1,5$ , TVBA įkvėpimų per dieną, patyrė žymiai daugiau paūmėjimų: 1,92 (95 proc. pasikliautinis intervalas (PI), 1,89–1,96), palyginti su 1,36 (95 proc. PI, 1,34–1,38) per paciento metus (3 pav.). PERNELYG dažnas TVBA vartojimas buvo susijęs ir su didesnėmis vidutinėmis metinėmis su LOPL susijusiomis sveikatos priežiūros išlaidomis (2010 m. Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) dolerių): 21 868 (standartinis nuokrypis (SN) 53 910), palyginti su 11 686 (SN 32 707) JAV dolerių, vartojant TVBA per purkštuvą, ir 9 216 (SN 30 710), palyginti su 7 334 (SD 24 853) JAV dolerių, vartojant TVBA per suspausto oro dozuoto aerozolio inhaliatorių; nepriklausomai nuo vartojimo formos, įskaitant tiek per purkštuvą, tiek per suspausto oro dozuoto aerozolio inhaliatorių, išlaidos siekė 15 806 (SN 35 260), palyginti su 11 233 (SN 27 006) JAV dolerių. Šias išvadas patvirtino IMPACT tyrimo duomenys. Taigi, LOPL sergantieji, vartoję 1,5 įkvėpimo TVBA per dieną, turėjo didesnę paūmėjimų riziką. Tyrimo autoriai siūlo LOPL gydyme apsvaistyti taisyklę „3–2“, kas reikštų, kad jei pacientas sukvėpuoja 3 TVBA įkvėpimus per 2 d., tai yra klinikinis žymuo, kad reikia pakartotinai vertinti skiriamą LOPL gydymą ir jį optimizuoti (išsamiau apie tyrimą – 5 šaltinyje).

## KARDIOVASKULINIS SAUGUMAS

LOPL gydyti skiriami įvairių farmakologinių grupių vaistai: ilgai veikiančios muskarino antagonistai (IVMA), IVBA, IGK ir jų deriniai. Remiantis anksčiau atliktais tyrimais, buvo diskutuojama apie galimą nedidelį širdies ir kraujagyslių sistemos įvykių rizikos padidėjimą gydant trumpo veikimo muskarino receptorių antagonistu (TVMA) ipratropiumo bromidu, o ilgą laiką gydant IVMA tiotropiumo padidėjusios širdies ir kraujagyslių sistemos įvykių rizikos nenustatyta [2]. Dėl TVBA ir IVBA kardiovaskulinio saugumo profilio ilgus trukmės tyrimai neįrodė padidintos mirtingumo rizikos gydant LOPL, nors simptomatiškai gali pasireikšti, pvz., dažnesnė širdies veikla arba didinti aritmijų riziką. Dėl IGK kardiovaskulinio saugumo – nepakanka duomenų apie padidėjusią širdies ir kraujagyslių sistemos riziką [6]. Tačiau dėl įvairių farmakologinių vaistų grupių ir skirtingų gerokai anksčiau atliktų tyrimų



**3 pav. TVBA vartojimo pasiskirstymas pagal paūmėjimų skaičių (tiriamųjų skaičius (N) 56 581). Viena TVBA dozė per purkštuvą buvo apibrėžiama kaip vienas purškimas naudojant vieną buteliuką (2,5 mg albuterolio ekvivalentas). Viena TVBA dozė per suspausto oro dozuotą inhaliatorių buvo apibrėžta kaip du įkvėpimai (vienas įkvėpimas = 90  $\mu$ g albuterolio ekvivalentas) [5]**

LOPL – lėtinė obstrukcinė plaučių liga; PI – pasikliautinis intervalas; TVBA - trumpo veikimo  $\beta_2$  agonistas.

interpretacijų nuolat keliamas klausimas, ypač kalbant apie IVMA, apie širdies ir kraujagyslių sistemos riziką.

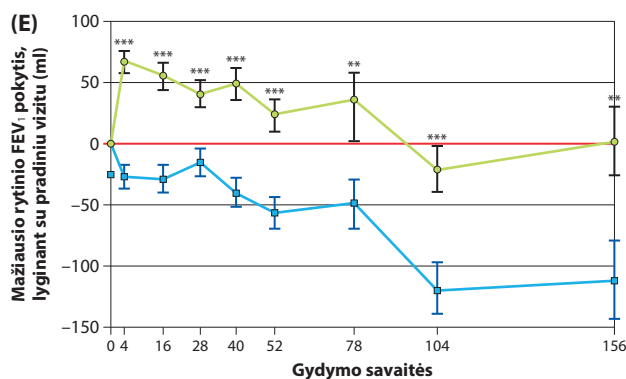
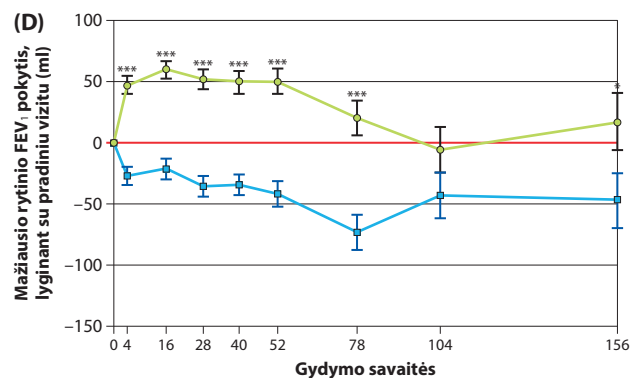
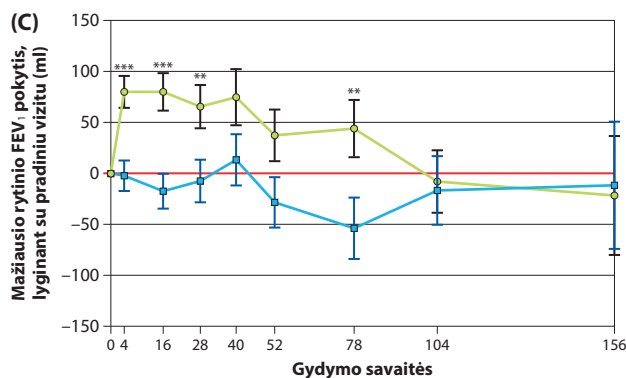
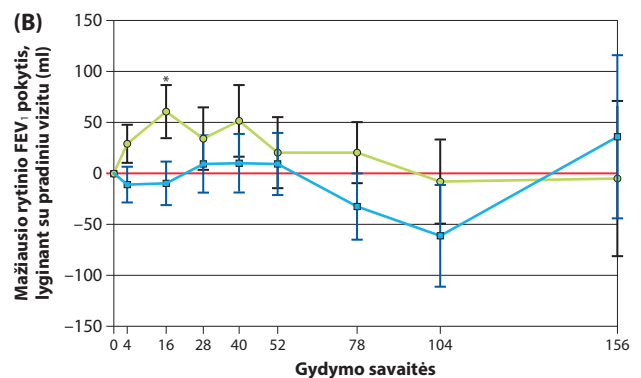
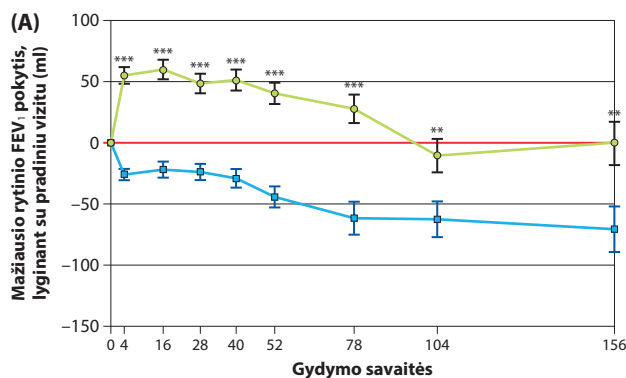
Vienas iš naujausių LOPL gydyti skiriamų vaistų derinių yra IVMA aklidinio bromido ir IVBA formoterolio fumarato derinys. Vertinant vaisto veiksmingumą ir saugumo profilį, atliktas ne vienas tyrimas. Vienas tokių – ketvirtos fazės daugiacentris, dvigubai aklas, atsitiktinių imčių, placebo kontroliuotas, lygiagrečių grupių ASCENT-COPD tyrimas, per kurį siekta nustatyti, ar IVMA aklidinio bromido saugumas ir veiksmingumas skiriasi vartojant IVBA ir IGK [7]. Tyrime dalyvavo  $\geq 40$  metų amžiaus pacientai, sergantys stabilia, ne lengvesne kaip vidutinio sunkumo LOPL ir turintys padidėjusią širdies ir kraujagyslių ligų riziką. Pacientai į tiriamąsias grupes buvo suskirstyti atsitiktinai santykiu 1:1 ir iki trejų metų trukmės buvo skiriama atitinkamai arba 400  $\mu$ g aklidinio, arba placebo du kartus per parą per daugiadozį sausų milietinių inhaliatorių. Iš viso į tyrimą buvo įtraukti 3 589 pacientai (IVBA  $n = 227$ ; IGK  $n = 290$ ; IVBA / IGK  $n = 2 058$ ; neskiriant papildomo gydymo  $n = 1 130$ ). Nepriklausomai nuo pradinio palaikomojo gydymo aklidinis nepadidino pirmojo didžiojo nepageidaujamo širdies ir kraujagyslių įvykio arba mirtingumo dėl bet kokios priežasties rizikos, palyginti su placebo. Visose tyrimo grupėse vartojant aklidinį sumažėjo vidutinio ir sunkaus LOPL paūmėjimo dažnis, palyginti su placebo (IVBA 43 proc.,  $p = 0,046$ ; IGK 25 proc.,  $p = 0,202$ ; IVBA / IGK 22 proc.,  $p = 0,003$ ; neskiriant papildomo gydymo 18 proc.,  $p = 0,130$ ). Aklidinis pagerino mažiausią rytinį  $FEV_1$  (angl. *trough FEV\_1*, kuris apibrėžiamas kaip  $FEV_1$  verčių vidurkis, gautas praėjus 23 ir 24 valandoms (val.) po ankstesnio ryto vaisto su-

kvėpavimo), neatsižvelgiant į pradinį gydymą ir LOPL vertinimo testo (angl. *COPD Assessment Test™*, CAT) bendrąjį balą, išskyrus IVBA ir IGK pogrupius, palyginti su placebo keliais laiko momentais (4 pav.). Remiantis tyrimo rezultatais, vidutinio sunkumo arba sunkia LOPL sergantiesiems, turintiems širdies ir kraujagyslių sistemos ligų rizikos veiksnių, gydymo papildymas aklidiniu suteikė papildomos naudos.

## AMPLIFY TYRIMO DUOMENYS, VERTINANT AKLIDINIO BROMIDO IR FORMOTEROLIO FUMARATO VEIKSMINGUMĄ

Atliktas 24 savaičių trukmės III fazės dvigubai aklas aktyviai kontroliuotas AMPLIFY tyrimas, kurio metu

vertintas aklidinio bromido ir formoterolio fumarato derinio veiksmingumas ir saugumas sergantiesiems vidutinio sunkumo ir sunkia LOPL su išreikštais simptomais (CAT  $\geq 10$  b.) [8]. Rezultatai palyginti su atskirais derinio monokomponentais ir tiotropiu. Tiriamieji buvo atsitiktinai suskirstyti į aklidinio bromido ir formoterolio fumarato 400  $\mu$ g / 12  $\mu$ g, aklidinio bromido 400  $\mu$ g arba formoterolio fumarato 12  $\mu$ g du kartus per parą, arba 18  $\mu$ g tiotropio vieną kartą per parą grupes. Pirminės vertinamosios baigtys buvo FEV<sub>1</sub>, matuojamo praėjus 1 val. po ryte įkvėptos vaisto dozės, pokytis nuo pradinio vizito ir praėjus 24 tyrimo savaitėms (aklidinio bromidas ir formoterolio fumaratas, palyginti su aklidinio bromidu) ir mažiausio FEV<sub>1</sub>,



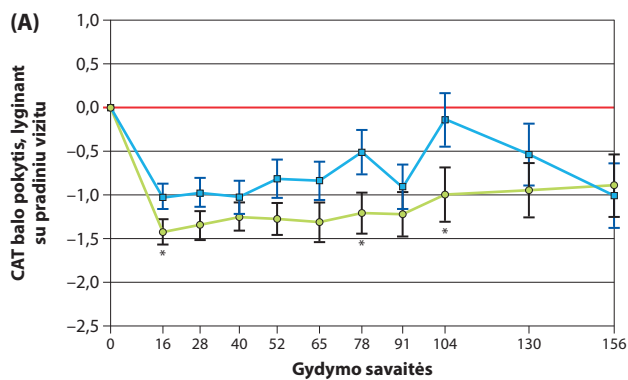
4 pav. (A) Mažiausio rytinio FEV<sub>1</sub> pokytis nuo pradinio vizito per 156 tyrimo savaites visoje tirtoje populiacijoje; (B) IVBA monoterapijos pogrupyje, pridėjus aklidinį; (C) IGK monoterapijos pogrupyje, pridėjus aklidinį; (D) IVBA / IGK pogrupyje, pridėjus aklidinį; (E) negydytiems palaikomoju gydymu ir pridėjus aklidinį [7]

\*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, vertinant aklidinio rezultatus, palyginti su placebo.

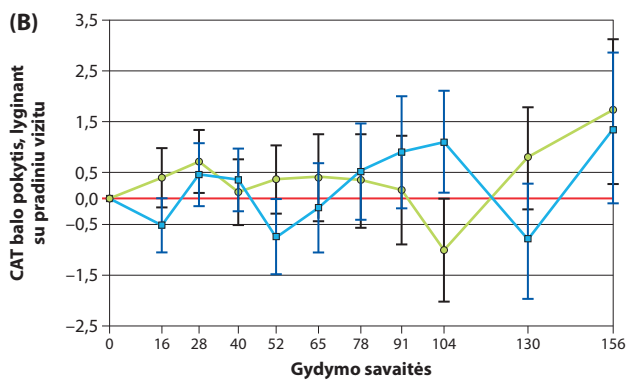
FEV<sub>1</sub> – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; IGK – įkvėpiamasis gliukokortikoidas; IVBA – ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistas; n – į analizę įtraukti pacientų skaičius; N – gydymo grupės pacientų skaičius.

Duomenys pateikti mažiausių kvadratų vidurkiu  $\pm$  standartinė paklaida.

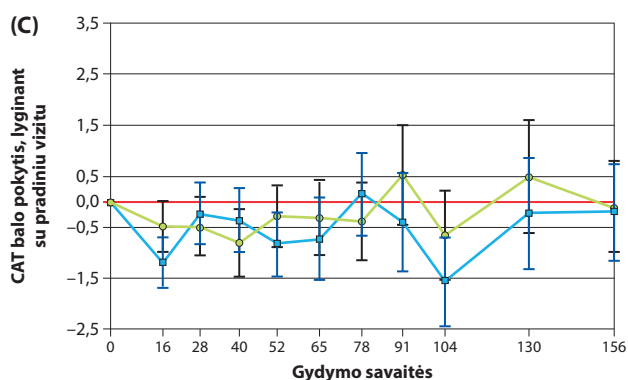
# Farmakoterapija



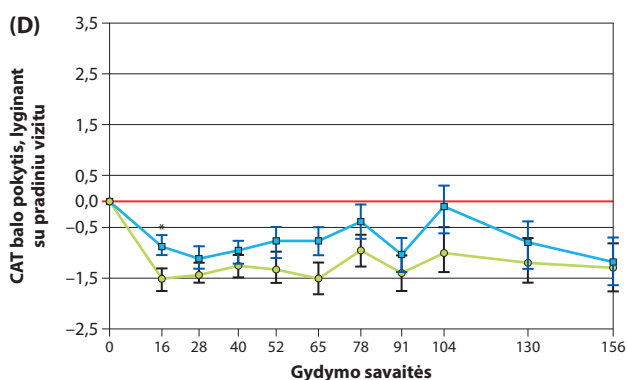
Aklidinis, n	1515	1388	1263	935	643	506	404	384	251	246
Placebas, n	1451	1322	1183	862	601	444	367	330	221	232



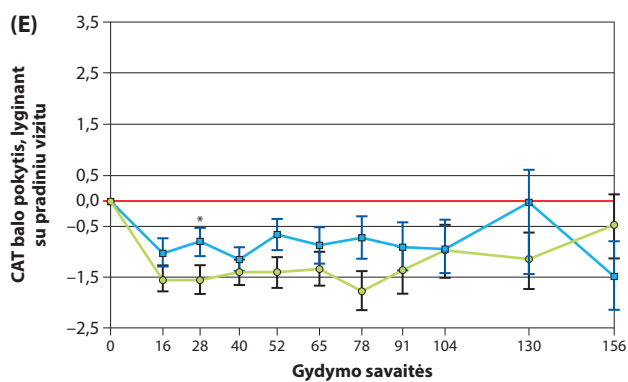
Aklidinis, n	93	87	81	61	43	28	25	24	18	15
Placebas, n	104	88	82	58	40	26	22	17	12	14



Aklidinis, n	122	112	102	77	61	44	33	29	20	22
Placebas, n	126	113	102	70	52	38	32	30	21	20



Aklidinis, n	865	792	716	524	339	266	217	202	141	138
Placebas, n	818	747	677	489	338	250	211	190	131	135



Aklidinis, n	482	440	404	306	227	185	144	142	81	83
Placebas, n	455	417	364	275	195	146	115	104	65	72

5 pav. Bendro CAT balo pokytis per 156 tyrimo savaites (A) visoje populiacijoje; (B) pradinio vizito metu gydytų IVBA monoterapija pogrūpyje; (C) pradinio vizito metu gydytų IGK monoterapija pogrūpyje; (D) pradinio vizito metu gydytų IVBA / IGK pogrūpyje; (E) pradinio vizito metu negdytiems palaikomoju gydymu [7]

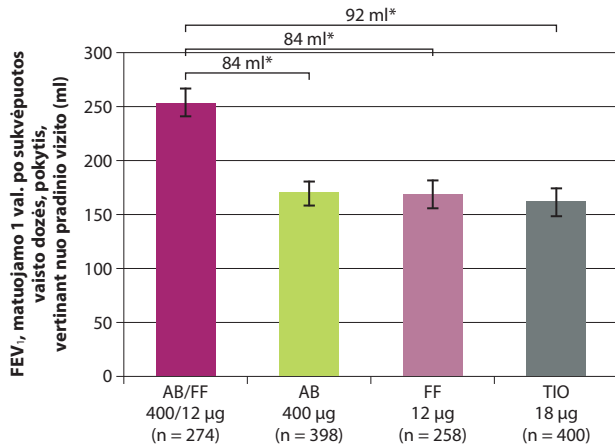
\* $p < 0,05$ , vertinant akliidinio rezultatus, palyginti su placebo.  
 CAT – LOPL vertinimo testas (angl. COPD Assessment Test™); IGK – įkvepiamasis gliukokortikoidas; IVBA – ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistas; n – į analizę įtrauktų pacientų skaičius; LOPL – lėtinė obstrukcinė plaučių liga; N – gydymo grupės pacientų skaičius.  
 Duomenys pateikti mažiausių kvadratų vidurkiu  $\pm$  standartinė paklaida.

matuojamo prieš suvartojant kitą vaisto dozę (akliidinio bromidas ir formoterolio fumaratas, palyginti su formoterolio fumaratu). Taip pat vertinta, ar FEV<sub>1</sub> prieš įkvepiant kitą vaisto dozę yra panašus, kaip vartojant akliidinio bromidą ir tiotropį. Vertintas ir normalizuotas plotas po kreive (AUC)<sub>0–3/3 val.</sub> FEV<sub>1</sub> ir naktiniai, ankstyvo ryto simptomai. Vienas tiriamųjų pogrūpis dalyvavo 24 val. serijinės spirometrijos subtyrime.

Iš viso atsitiktinės atrankos būdu atrinkti 1 594 pacientai; subtyrime dalyvavo 566 tiriamieji. 24 tyrimo savaitę FEV<sub>1</sub>, matuojant praėjus 1 val. po sukvėpuotos vaisto dozės, reikšmingai pagerėjo vartojant akliidinio bromidą ir formoterolio fumaratą, palyginti su akliidinio bromidu, formoterolio fumaratu ir tiotropiu (84,

84 ir 92 ml;  $p = 0,0001$ ) (5 pav.). Mažiausia FEV<sub>1</sub> vertė, matuota prieš kitą vaisto dozę, buvo reikšmingai geresnė akliidinio bromido ir formoterolio fumarato grupėje, palyginti su formoterolio fumaratu (55 ml,  $p = 0,001$ ), o akliidinio bromido grupėje buvo ne prastesnis už tiotropio grupės rezultatus (6 pav.). Akliidinio bromidas ir formoterolio fumaratas žymiai pagerino AUC<sub>0–3/3 val.</sub> FEV<sub>1</sub>, palyginti su visais tirtais vaistiniais preparatais ( $p = 0,0001$ ) (7 pav.), ir žymiai pagerino ankstyvo ryto simptomus, palyginti su tiotropiu. 24 val. spirometrija parodė ženkliai didesnę AUC<sub>12–24/12 val.</sub> padidėjimą akliidinio bromido ir formoterolio fumarato grupėje, palyginti su visais lygintais preparatais, ir AUC<sub>0–24/24 val.</sub>, palyginti su formoterolio fumaratu arba tiotropiu 24

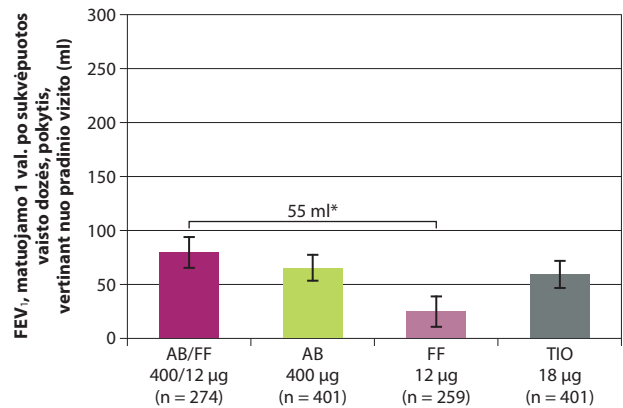




**6 pav. FEV<sub>1</sub> pokytis 24-ą tyrimo savaitę, palyginti su pradiniu vizitu, praėjus 1 val. po sukvėpuotos vaisto dozės [8]**

\*p = 0,0001. Duomenys yra mažiausių kvadratų vidurkis ± standartinė paklaida.

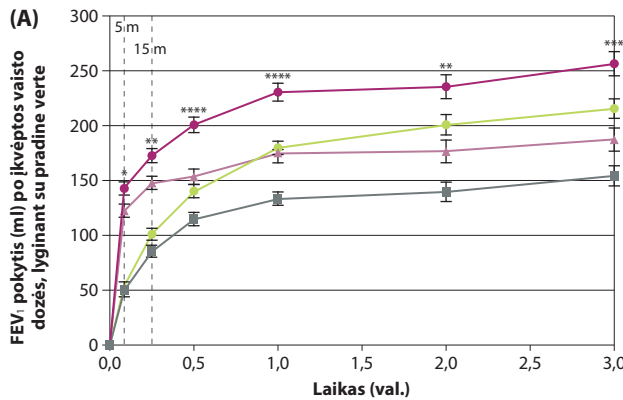
AB – aklidinio bromidas; FF – formoterolio fumaratas; TIO – tiotropis.



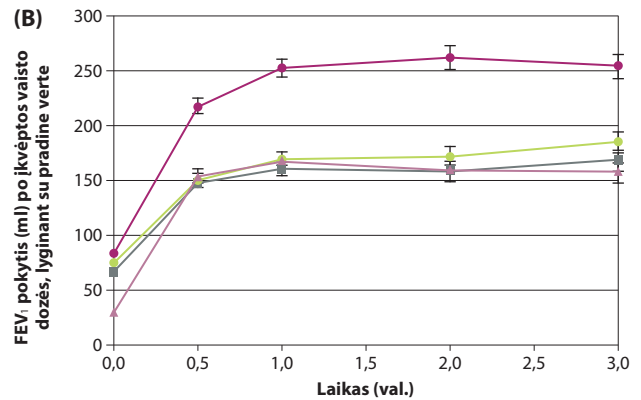
**7 pav. Mažiausio FEV<sub>1</sub>, matuojamo prieš kitą vaisto dozę, pokytis 24-ą tyrimo savaitę, palyginti su pradiniu vizitu [8]**

\*p = 0,001. Duomenys yra mažiausių kvadratų vidurkis ± standartinė paklaida.

AB – aklidinio bromidas; FF – formoterolio fumaratas; TIO – tiotropis.



AUC <sub>0-3/3 val.</sub> FEV <sub>1</sub> (ml)			
Gydymo veiksmingumo skirtumas	AB 400 µg	FF 12 µg	TIO 18 µg
AB/FF 400/12 µg	48 <sup>†</sup>	54 <sup>†</sup>	94 <sup>†</sup>



AUC <sub>0-3/3 val.</sub> FEV <sub>1</sub> (ml)			
Gydymo veiksmingumo skirtumas	AB 400 µg	FF 12 µg	TIO 18 µg
AB/FF 400/12 µg	75 <sup>†</sup>	87 <sup>†</sup>	85 <sup>†</sup>

—●— AB/FF 400/12 µg —●— AB 400 µg —●— FF 12 µg —■— TIO 18 µg

**8 pav. FEV<sub>1</sub> pokytis per 3 val. nuo sukvėpuotos vaisto dozės, lyginant su pradine verte, ir AUC<sub>0-3/3 val.</sub> 1-ą dieną (A) ir 24-ą savaitę (B) [8]**

AB – aklidinio bromidas; AUC – plotas po kreive; FEV<sub>1</sub> – forsuito iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FF – formoterolio fumaratas; TIO – tiotropis.

\*p = 0,05; \*\*p = 0,01; \*\*\*\*p = 0,0001; \*\*\*\*p = 0,0001, palyginti su visais kitais gydymo būdais. #p = 0,01, palyginti su FF. †p = 0,0001. Duomenys pateikiami kaip mažiausių kvadratų vidurkis ± standartinė paklaida.

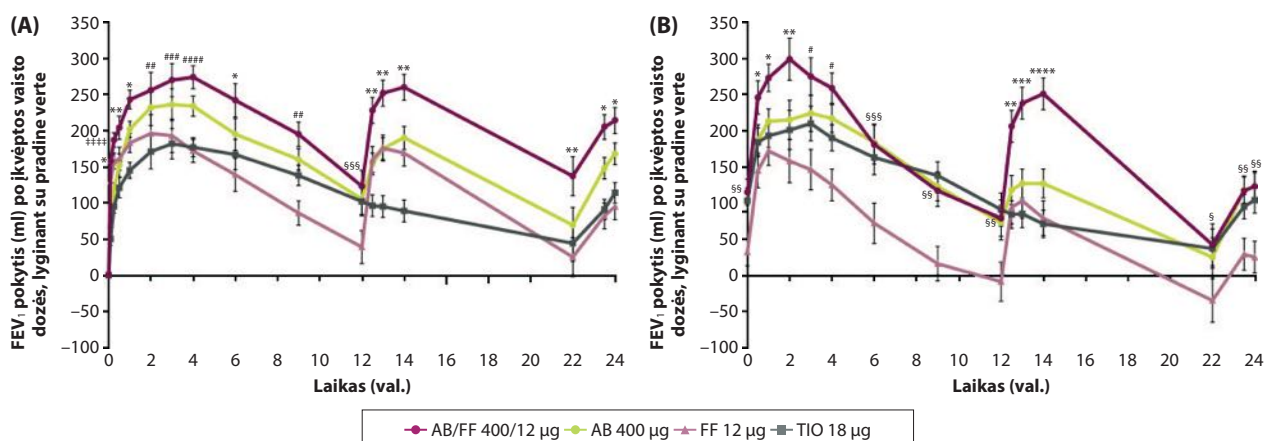
tyrimo savaitę. Serijinės 24 val. spirometrijos pogrupyje po sukvėpuoto aklidinio bromido ir formoterolio fumarato fiksuotas žymus FEV<sub>1</sub> padidėjimas, lyginant su pradine FEV<sub>1</sub> verte ir skiriama monoterapija atskirais komponentais (8 pav.). Toks poveikis išliko per visą 24 savaitių tyrimo laikotarpį.

Taigi, sergantiesiems vidutinio sunkumo arba sunkesne išreikštais simptomais pasireiškiančia LOPL du kartus per parą vartojamas aklidinio bromidas ir formoterolio fumaratas reikšmingai pagerino plaučių funkciją, palyginti su atitinkama monoterapija atskirais komponentais ir tiotropiu, ir ankstyvojo ryto simptomus, palyginti su tiotropiu. Kas parodo, kad galima veiksmingai mažinti LOPL simptomus, retinti paūmėjimus ir taip lėtinti ligos vystymąsi.

## APIBENDRINIMAS

LOPL yra nuolat besivystanti liga, dažnu atveju susijusi su išreikštais simptomais, daranti įtaką gyvenimo kokybei ir nulemianti reikšmingas gydymo išlaidas. Siekiama gydymą kiek įmanoma individualizuoti, mažinti ligos simptomus, retinti ligos paūmėjimus, mažinti socioekonominę našta. Pernelyg dažnas TVBA vartojimas yra ženklas, kad nuolatinis medikamentinis gydymas turi būti peržiūrimas ir optimizuojamas. Nesant dažnų paūmėjimų, bet esant išreikštiems simptomams, tikslingas gydymas IVMA ir IVBA deriniu. Vienas naujausių LOPL gydymui skiriamų derinių yra aklidinio bromidas ir formoterolio fumaratas, kurio veiksmingumas ir saugumas įrodytas didelės apimties tyrimais.

# Farmakoterapija



9 pav. FEV<sub>1</sub> pokytis per 24 val. nuo vaisto suvartojimo, lyginant su pradine verte, 1-ą dieną (A) ir 24-ą tyrimo savaitę (B) [8]

AB – aklidinio bromidas; AUC – plotas po kreive; FEV<sub>1</sub> – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmąją sekundę; FF – formoterolio fumaratas; TIO – tiotropis.

\*p = 0,05; \*\*p = 0,01; \*\*\*p = 0,001; \*\*\*\*p = 0,0001 AB / FF, lyginant su visais kitais gydymo būdais. #p = 0,05; ##p = 0,01; ###p = 0,001; ####p = 0,0001 AB / FF, lyginant su FF ir TIO. ####p = 0,0001 AB / FF, lyginant su AB ir TIO. sp = 0,05; ssp = 0,01; sssp = 0,001 AB / FF, lyginant su FF.

Duomenys pateikiami kaip mažiausių kvadratų vidurkis ± standartinė paklaida.

## LITERATŪRA

1. World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd))
2. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2022 Report. Available at: <https://goldcopd.org/2022-gold-reports-2/>
3. Fan VS, Gyls-Colwell I, Locke E, Sumino K, Nguyen HQ, Thomas RM, Magzamen S. Overuse of short-acting beta-agonist bronchodilators in COPD during periods of clinical stability. *Respir Med.* 2016; 116:100–6.
4. Patel M, Pilcher J, Reddel HK, Qi V, Mackey B, Tranquilino T, et al. Predictors of severe exacerbations, poor asthma control, and β-agonist overuse for patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014; 2(6):751–8.
5. Sharafkhaneh A, Altan AE, Colice GL, Hanania NA, Donohue JF, Kurlander JL, et al. A simple rule to identify patients with chronic obstructive pulmonary disease who may need treatment reevaluation. *Respir Med.* 2014; 108(9):1310–20.
6. Jing X, Li Y, Xu J. Risk of cardiovascular events associated with inhaled corticosteroid treatment in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *Can Respir J.* 2018; 2018:7097540.
7. Wise RA, Scirica BM, Bhatt DL, Daoud SZ, Chuecos F, Garcia Gil E, et al. Efficacy of aclidinium bromide according to baseline therapy: post-hoc analysis of ASCENT-COPD randomized trial. *Adv Ther.* 2021; 38(10):5381–97.
8. Sethi S, Kerwin E, Watz H, Ferguson GT, Mroz RM, Segarra R, et al. AMPLIFY: a randomized, Phase III study evaluating the efficacy and safety of aclidinium/formoterol vs monocomponents and tiotropium in patients with moderate-to-very severe symptomatic COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2019; 14:667–82.

# Nerezektabilios piktybinės pleuros mezoteliomos pirmaeilis gydymas nivolumabu ir ipilimumabu

FIRST LINE TREATMENT OF UNRESECTABLE MALIGNANT PLEURAL MESOTHELIOMA WITH NIVOLUMAB PLUS IPILIMUMAB

GIEDRĖ GUREVIČIENĖ

LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Pastaraisiais metais imuninės kontrolės taškų inhibitoriai, kurių veikimas pagrįstas priešnavikinio imuninio atsako atkūrimu, labai pakeitė įvairių lokalizacijų vėžio gydymą. Klinikinių tyrimų duomenimis, nivolumabo ir ipilimumabo derinys pagerina bendrojo išgyvenamumo rezultatus melanomos, inkstų naviko ir nesmulkių ląstelių plaučių karcinomos atveju. Šiame straipsnyje pateikiami trečiosios fazės atsitiktinių imčių klinikinio tyrimo CheckMate 743 duomenys, gauti vertinant nivolumabo ir ipilimumabo veiksmingumą ir saugumą pirmos eilės nerezektabilios piktybinės pleuros mezoteliomos (PPM) gydymui, lyginant su standartine chemoterapija platinos pagrindu ir pemetreksedu. Į klinikinį tyrimą įtraukta 713 pacientų, iš kurių 605 atitiko kriterijus ir atsitiktine tvarka paskirti į nivolumabo ir ipilimumabo grupę (n = 303) arba chemoterapijos grupę. Tarpinės analizės duomenimis, nivolumabas ir ipilimumabas statistiškai reikšmingai pagerino bendrąjį išgyvenamumą, lyginant su chemoterapijos grupe. Remiantis šiais rezultatais Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) Maisto ir vaistų administracija ir Europos vaistų agentūra nivolumabo ir ipilimumabo derinį patvirtino pirmaeiliam neoperabilios PPM gydymui.

**Reikšminiai žodžiai:** ipilimumabas, nivolumabas, piktybinė pleuros mezotelioma (PPM), imunoterapija.

**Summary.** Over the past years, immune checkpoint inhibitors, which restore endogenous antitumour immune response, have radically changed the therapy paradigm of various localisation cancer. Nivolumab plus ipilimumab has shown durable overall survival benefit in melanoma, renal cell carcinoma and in non-small cell lung cancer. We present open-label, randomly assigned, phase 3 study CheckMate 743 results. The aim of this study was to evaluate nivolumab plus ipilimumab efficacy and safety for first-line unresectable malignant pleural mesothelioma (MPM) compared with platinum plus pemetrexed chemotherapy. The clinical trial enrolled 713 patients, of whom 605 met the criteria and were randomized to either the nivolumab plus ipilimumab group (n = 303) or the chemotherapy group. At the prespecified interim analysis, nivolumab plus ipilimumab significantly extended overall survival versus chemotherapy. According to this data, nivolumab plus ipilimumab has been approved in the USA for previously untreated unresectable MPM.

**Keywords:** ipilimumab, nivolumab, malignant pleural mesothelioma, immunotherapy.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1026>

### IVADAS

Piktybinė pleuros mezotelioma (PPM) – tai retas piktybinis pleuros navikas, kuriam būdinga agresyvi ligos eiga ir greitas progresavimas, todėl diagnozės nustatymo metu didžiąjai daliai pacientų nebegalimas operacinis gydymas, o penkerių metų išgyvenamumas siekia vos 10 proc. [1, 2]. Sergamumas PPM Lietuvoje nėra tiksliai žinomas, o pasaulyje įvairių literatūros šaltinių duomenimis siekia nuo 0,5 iki 2 atvejų 100 000 gyventojų. Žinoma, kad paciento amžius, lytis, ligos stadija, naviko piktybiškumas ir histologija yra nepriklausomi prognostiniai veiksniai. Išskiriamas epitelioidinis ir neepitelioidinis (sarkominis ir mišrus) histologiniai PPM potipiai. Neepitelioidinė mezotelioma yra nustatoma rečiau, tačiau susijusi su blogesne prognoze, lyginant su epitelioidiniu potipiu [1–3]. Iki

2020 m. chemoterapija platinos pagrindu kartu su antimetabolitais, folio rūgšties analogais, tokiais kaip pemetreksedas, buvo vienintelis patvirtintas pirmaeilis PPM gydymas nuo pat 2004 m. [4, 5]. Nepaisant šio chemoterapinio gydymo, ilgalaikio išgyvenamumo rezultatai išliko prasti [6–9], todėl ieškant veiksmingesnio gydymo kombinacijų, prie minėtos chemoterapijos schemas pridėtas bevacizumabas [10]. Tačiau ši gydymo schema nebuvo patvirtinta, tad išlieka neatidėliotinas naujo, veiksmingesnio PPM gydymo varianto poreikis.

Nivolumabas (žmogaus anti PD-1 (angl. *programmed cell death protein 1*) IgG4 monokloninis antikūnas) ir ipilimumabas (monokloninis antikūnas prieš citotoksinio T limfocito molekulę CTLA-4) – vaistai, turintys skirtingą, tačiau vienas kitą papildantį vei-

kimo mechanizmą. Ipilimumabas skatina T ląstelių proliferaciją ir *de novo* priešnavikinį T ląstelių atsaką, įskaitant ir atminties T ląsteles. O nivolumabas atkuria jau egzistuojančių T ląstelių priešnavikinį poveikį [11]. Nivolumabas kartu su ipilimumabu yra patvirtinti įvairių lokalizacijų piktybinių navikų gydymui [12, 13]. Klinikinių tyrimų duomenimis, ši dviejų imunoterapijų vaistų kombinacija pagerina ilgalaikį bendrąjį išgyvenamumą melanomos [14], inkstų vėžio [15] ir nesmulkių ląstelių plaučių karcinomos (NSLKP) [16] atveju. Be to, remiantis Nacionalinio visuotinio vėžio instituto (angl. *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN)) rekomendacijomis, nivolumabas kartu su ipilimumabu arba be jo yra rekomenduojamas antros ir vėlesnės eilės PPM gydymui (2A įrodymų lygmuo) [17, 18].

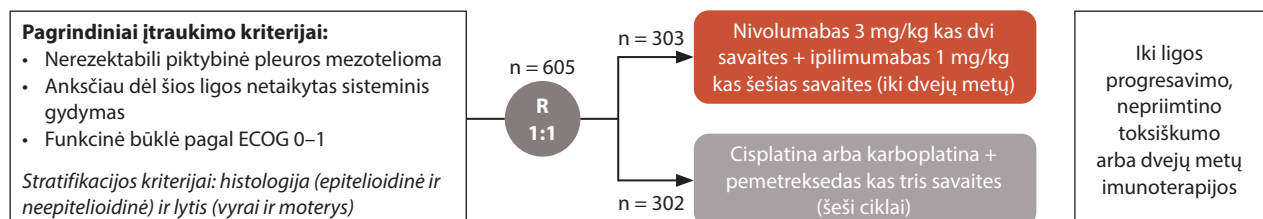
CheckMate 743 yra trečios fazės, atsitiktinių imčių klinikinis tyrimas, kurio metu vertintas nivolumabo kartu su ipilimumabu veiksmingumas ir saugumas pirmos eilės nerezektabilios PPM gydymui, lyginant su standartine chemoterapija platinos pagrindu ir pemetreksedu. Remiantis šio klinikinio tyrimo tarpinės analizės duomenimis, nivolumabo ir ipilimumabo derinį patvirtino JAV Maisto ir vaistų administracija (angl. *U.S. Food and Drug Administration*, FDA) ir Europos vaistų agentūra (angl. *European Medicines Agency*, EMA) [12, 13]. Be to, NCCN rekomendacijose nivolumabas ir ipilimumabas siūlomi pirmos eilės (2A įrodymų lygmuo) gydymui pacientams, kuriems patvirtinta neepitelioidinė (mišri arba sarkomatoidinė) PPM, tačiau šis gydymas gali būti skiriamas ir epitelioidinės PPM gydymui.

## TYRIMO DIZAINAS

Trečios fazės atviro atsitiktinių imčių CheckMate 743 klinikinio tyrimo metu buvo vertintas dvigubos imunoterapijos – nivolumabo su ipilimumabu veiksmingumas ir saugumas pirmos eilės nerezektabilios PPM gydymui, lyginant su standartine chemoterapija. Į šį klinikinį tyrimą įtraukta 713 asmenų, ne jaunesnių nei 18 metų, kuriems histologiškai patvirtinta nerezektabilė PPM. Tiriamieji turėjo būti geros funkcinės būklės (pagal ECOG (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) skalę 0–1 balai) [19]. Jei pacientams taikyta paliatyvi

spindulinė terapija, ji turėjo būti baigta ne mažiau nei dvi savaitės iki tyrimo pradžios ir privalėjo neturėti liekamųjų toksiškumo požymių. Turėjo būti galimas ligos vertinimas pagal modifikuotą RECIST (angl. *Modified Response Criteria in Solid tumors*, mRECIST) [20], pritaikytą PPM, arba remiantis RECIST 1.1 versija (tuo atveju, kai išmatuojami taikiniai buvo ne pleuroje, o už jos ribų). Privalėjo būti pateikti naviko mėginiai, tinkami programuotos ląstelės žūties ligando 1 (angl. *Programmed Cell Death Ligand 1*, PD-L1) ištyrimui, o laboratorinių tyrimų duomenimis turėjo būti adekvati kitų organų veikla. Neįtraukimo į klinikinį tyrimą kriterijai: nustatytos metastazės galvos smegenyse (išskyrus tuos atvejus, kai taikytas operacinis gydymas arba stereotaksinė spindulinė terapija ir nėra klinikinį simptomų ir ligos progresavimo požymių 3 mėn. iki įtraukimo į klinikinį tyrimą); aktyvi autoimuninė liga; ankstesnis gydymas taikinių terapija arba vaistais, veikiančiais T ląstelių stimuliaciją; nustatyta pirminė pilvaplovės, perikardo arba sėklidės dangalų mezotelioma; sutrikusi kraujodaros, inkstų arba kepenų funkcija; patvirtinta žmogaus imunodeficito viruso infekcija; nustatyta plaučių liga, sukianti simptomus arba galinti apsunkinti galimai besivystančio vaistų toksiškumo radiologinių vaizdų vertinimą; nustatytas naujas kitos lokalizacijos onkologinis susirgimas arba nuo remisijos praėjo mažiau nei treji metai; skiriamas sisteminis gydymas gliukokortikoidais arba imunosupresinis gydymas per 14 dienų iki pirmos klinikinio tyrimo vaisto dozės.

Pacientai buvo atrinkti atsitiktine tvarka santykiu 1:1 į dvi gydymo grupes: nivolumabo su ipilimumabu grupę ir chemoterapijos grupę (1 pav.). Atliktas vertinimas atsižvelgiant į lytį ir histologiją (epitelioidinė ir neepitelioidinė (sarkomatoidinė ir mišri) PPM). Pacientams, patekusiems į eksperimentinę grupę, skirtas gydymas nivolumabu (3 mg/kg kas dvi savaites) ir ipilimumabu (1 mg/kg kas šešias savaites), gydymas tęstas iki ligos progresavimo, nepriimtino toksiškumo arba dvejų metų gydymo trukmės. Pacientams, patekusiems į chemoterapinio gydymo grupę, skirta chemoterapija cisplatina arba karboplatina ir pemetreksedu kas tris savaites iki šešių kursų, ligos progresavimo arba nepriimtino toksiškumo. Vaizdiniai tyrimai naviko



1 pav. CheckMate 743 tyrimo dizainas

Duomenų gavimo data 2020 m. balandžio 3 d., vidutinė sekimo trukmė 29,7 mėn.

ECOG – Rytų kooperatinės onkologijos grupės (angl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) parengta pacientų funkcinės būklės vertinimo skalė; R – santykis.

# Farmakoterapija

vertinimui buvo atliekami kas šešias savaites pirmuosius 12 mėn., vėliau tęsiant kontrolę kas 12 savaitių iki ligos progresavimo patvirtinimo (remiantis mRECIST arba RECIST 1.1 versija).

Pirminis CheckMate 743 klinikinio tyrimo tikslas – bendrasis išgyvenamumas. Antriniais tikslais: išgyvenamumas be ligos progresavimo, objektyvaus atsako dažnis, laikas iki atsako, atsako trukmė ir ligos kontrolė visiems pacientams, atsitiktinai atrinktiems į gydymo grupes, taip pat bendrasis išgyvenamumas, išgyvenamumas be ligos progresavimo ir objektyvaus atsako dažnis, atsižvelgiant į PD-L1 raišką. Galutiniai tyrimo tikslai buvo saugumas ir gydymo toleravimas.

Klinikinio tyrimo protokolas numatė tarpinę ir galutinę duomenų analizę. Tačiau remiantis nepriklausomo duomenų stebėjimo komiteto (angl. *independent Data Monitoring Committee*) rekomendacijomis, klinikinis tyrimas atitiko pagrindinį tikslą tarpinės analizės metu, todėl nulinė hipotezė buvo atmesta ir ši analizė laikoma galutine.

## REZULTATAI

Nuo 2016 m. lapkričio iki 2018 m. balandžio į klinikinį tyrimą įtraukta 713 pacientų, iš kurių 605 atitiko kriterijus ir atsitiktine tvarka paskirti į nivolumabo ir ipilimumabo grupę (n = 303) arba chemoterapijos grupę (n = 302). 300 dalyvių nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir 284 dalyviai chemoterapijos grupėje gavo bent vieną numatyto gydymo dozę. Atliekant duomenų analizę (duomenų gavimo data 2020 m. balandžio 3 d.) bendrojo išgyvenamumo stebėsenos mediana buvo 29,7 mėn. (tarpkvartilinis plotis 26,7–32,9), o mažiausia bendrojo išgyvenamumo stebėsenos trukmė – 22,1 mėn. Pagrindinės charakteristikos tarp grupių buvo gerai subalansuotos (1 lentelė).

Duomenų vertinimo metu chemoterapijos grupėje gydymas baigtas visiems pacientams, o nivolumabo ir ipilimumabo grupėje 2 proc. pacientų gydymas dar buvo tęsiamas. Tik 8 proc. pacientų praveistas dvejų metų trukmės imunoterapinis gydymas. O chemoterapijos grupėje 62 proc. pacientų buvo praveisti šeši chemoterapijos kursai. Abiejose grupėse dažniausia gydymo nutraukimo priežastis – ligos progresavimas ir vaistų toksiskumas, atitinkamai 61 proc. ir 20 proc. nivolumabo ir ipilimumabo grupėje bei 16 proc. ir 8 proc. chemoterapijos grupėje. Vidutinė gydymo trukmė siekė 5,6 mėn. nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir 3,5 mėn. chemoterapijos grupėje.

Remiantis CheckMate 743 tyrimo duomenimis, patvirtinta, kad nivolumabas su ipilimumabu statistiškai reikšmingai prailgina vidutinį bendrąjį išgyvenamumą, kuris imunoterapijos grupėje siekė 18,1 mėn. (95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 16,8–21,4), palyginus su 14,1 mėn. (95 proc. PI 12,4–16,2) trukme chemoterapijos grupėje (šansų santykis (ŠS) 0,74 (96,6 proc.

PI 0,60–0,91; p = 0,0020; 2 pav.)). Vienų metų išgyvenamumas atitinkamai buvo 68 proc. (95 proc. PI 62,3–72,8) ir 58 proc. (95 proc. PI 51,7–63,2). Dvejų metų išgyvenamumas atitinkamai siekė 41 proc. (95 proc. PI 35,1–46,5) ir 27 proc. (95 proc. PI 21,9–32,4). Bendrasis išgyvenamumas buvo panašus tarp chemoterapijos šakų: bendrojo išgyvenamumo mediana taikant gydymą cisplatina ir pemetreksedu buvo 13,7 mėn. (95 proc. PI 11,8–17,9), karboplatina ir pemetreksedu – 15,0 mėn. (95 proc. PI 12,2–17,9). Geresni bendrojo išgyvenamumo rezultatai matyti daugumoje gydymo nivolumabu ir ipilimumabu šakos pogrupių, išskyrus ≥ 75 metų amžiaus pacientų pogrupį. Bendrojo išgyvenamumo rezultatai, nepriklausomai nuo histologijos tipo, buvo geresni nivolumabo ir ipilimumabo grupėje, lyginant su chemoterapijos

1 lentelė. Demografiniai ir klinikiniai tiriamųjų duomenys

	Nivolumabas ir ipilimumabas (n = 303)	Chemoterapija (n = 302)
<b>Amžius, metais (mediana)</b>		
< 65	69 (65–75)	69 (62–75)
≥ 65 ir < 78	71 (23)	96 (32)
≥ 75	154 (51)	127 (42)
	78 (26)	79 (26)
<b>Lytis, n (proc.)</b>		
Vyrai	234 (77)	233 (77)
Moterys	69 (23)	69 (23)
<b>Regionas, n (proc.)</b>		
Šiaurės Amerika	32 (11)	27 (9)
Europa	177 (58)	175 (58)
Azija	26 (9)	39 (13)
Likęs pasaulis	68 (22)	61 (20)
<b>ECOG, n (proc.)</b>		
0	114 (38)	128 (42)
1	189 (62)	173 (57)
<b>Rūkytas, n (proc.)</b>		
Rūkantis arba rūkę	173 (57)	171 (57)
Nerūkantis	127 (42)	122 (40)
Nežinoma	3 (1)	9 (3)
<b>Histologija, n (proc.)</b>		
Epitelioidinė	229 (76)	227 (75)
Neepitelioidinė	74 (24)	75 (25)
Sarkomatoidinė	35 (12)	36 (12)
Mišri ir kita	39 (13)	39 (13)
<b>Ligos stadija, n (proc.)</b>		
1	12 (4)	20 (7)
2	23 (8)	22 (7)
3	103 (34)	106 (35)
4	160 (53)	149 (49)
Nežinoma	5 (2)	5 (2)
<b>Ankstesnis vėžio gydymas, n (proc.)</b>		
Spindulinė terapija	29 (10)	28 (9)
Sisteminis gydymas	1 (< 1)	0
<b>PD-L1 raiška, n (proc.)</b>		
Kiekybiškai įvertinta	289 (95)	297 (98)
< 1 proc.	57 / 289 (20)	78 / 297 (26)
≥ 1 proc.	232 / 289 (80)	219 / 297 (74)

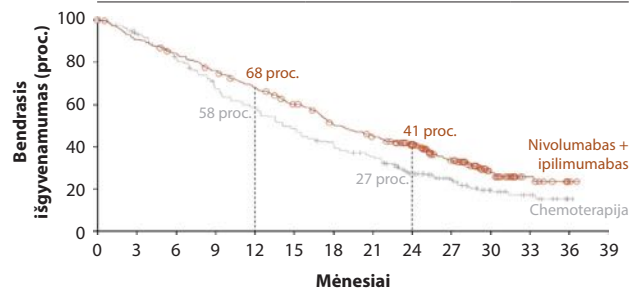
PD-L1 – programuotos ląstelės žūties ligandas 1.

grupe (3 pav.). Tačiau nustatytas ryšys tarp geresnio atsako į gydymą ir neepitelioidinės PPM histologijos (ŠS 0,46; 95 proc., PI 0,31–0,68) nei esant nustatytai epitelioidinei histologijai (ŠS 0,86; 95 proc. PI 0,69–1,08). Vidutinis bendrasis išgyvenamumas nivolumabo ir ipilimumabo grupėje buvo panašus tarp neepitelioidinio ir epitelioidinio histologijos potipių, atitinkamai 18,1 mėn. ir 18,7 mėn., kaip ir dvejų metų išgyvenamumas – atitinkamai 38 proc. ir 42 proc. Priešingai chemoterapijos grupėje, kur vidutinis bendrasis išgyvenamumas reikšmingai skyrėsi tarp neepitelioidinio ir epitelioidinio histologijos potipių (8,8 mėn., lyginant su 16,5 mėn.) kaip ir dvejų metų išgyvenamumas (8 proc., lyginant su 33 proc.) ir buvo geresnis esant epitelioidinei PPM.

Atsižvelgiant į PD-L1 raišką ant navikinių ląstelių nivolumabo ir ipilimumabo grupėje, lyginant su chemoterapijos grupe, geresni bendrojo išgyvenamumo rezultatai nustatyti pacientams, kurių PD-L1 raiška buvo  $\geq 1$  proc. (ŠS 0,69; 95 proc. PI 0,55–0,87), lyginant su tais pacientais, kurių PD-L1 raiška  $< 1$  proc. (ŠS 0,94; 95 proc. PI 0,62–1,40) (4 pav.). Nepaisant to, vidutinis bendrasis išgyvenamumas nivolumabo ir ipilimumabo grupėje buvo panašus tarp pacientų abiejose grupėse: 18,0 mėn. (95 proc. PI 16,8–21,5), esant PD-L1 raiškai  $\geq 1$  proc., ir 17,3 mėn. (95 proc. PI 10,1–24,3), esant PD-L1 raiškai  $< 1$  proc.; vienų metų išgyvenamumo rodiklis atitinkamai buvo 70 proc. (95 proc. PI 63,4–75,3) ir 59 proc. (95 proc. PI 45,5–70,9), o dvejų metų išgyvenamumas siekė 41 proc. (95 proc. PI 34,3–47,2) ir 39 proc. (95 proc. PI 25,9–51,3). Vidutinis bendrasis išgyvenamumas chemoterapijos grupėje skyrėsi tarp pacientų, kurių PD-L1 raiška buvo  $\geq 1$  proc. (13,3 mėn.; 95 proc. PI 11,6–15,4) ir  $< 1$  proc. (16,5 mėn.; 95 proc. PI 13,4–20,5); vienų metų išgyvenamumas atitinkamai siekė 55 proc. (95 proc. PI 48,2–61,8) ir 64 proc. (95 proc. PI 52,3–73,9), o dvejų metų išgyvenamumas, atitinkamai, 28 proc. (95 proc. PI 22,1–34,7) ir 25 proc. (95 proc. PI 15,5–35,0).

Atliekant vidutinio išgyvenamumo be ligos progresavimo vertinimą, trumpiausias stebėsenos laikas buvo 19,8 mėn. Vidutinis išgyvenamumas be ligos progresavimo buvo panašus tarp gydymo šakų:

	Nivolumabas + ipilimumabas (n = 303)	Chemoterapija (n = 302)
Mediana, mėn. (95 proc. PI)	18,1 (16,8–21,4)	14,1 (12,4–16,2)
ŠS (96,6 proc. PI) p reikšmė	0,74 (0,60–0,91)	0,002



#### Rizikos pacientai

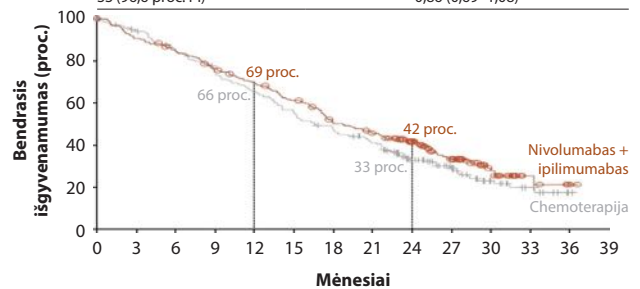
	303	273	251	226	200	173	143	124	101	65	30	11	2	0
Nivolumabas + ipilimumabas	303	273	251	226	200	173	143	124	101	65	30	11	2	0
Chemoterapija	302	268	233	190	162	136	113	95	62	38	20	11	1	0

## 2 pav. Bendrasis išgyvenamumas

Mažiausia stebėsenos trukmė 22,1 mėn.; stebėsenos mediana 29,7 mėn. Tolsnis sisteminis gydymas skirtas 44 proc. nivolumabo ir ipilimumabo grupės pacientų ir 41 proc. chemoterapijos grupės pacientų.

### A

	Nivolumabas + ipilimumabas (n = 229)	Chemoterapija (n = 302)
Mediana, mėn. (95 proc. PI)	18,7 (16,9–22,0)	16,5 (14,9–20,5)
ŠS (96,6 proc. PI)	0,86 (0,69–1,08)	

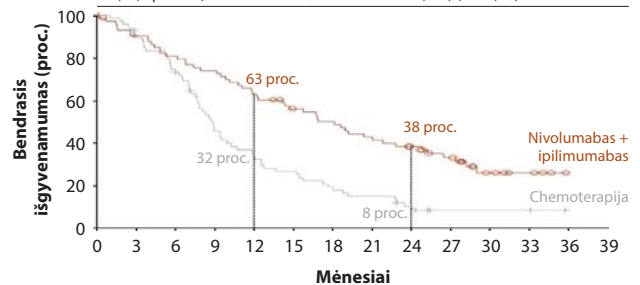


#### Rizikos pacientai

	229	207	192	172	154	135	109	96	77	47	22	6	2	0
Nivolumabas + ipilimumabas	229	207	192	172	154	135	109	96	77	47	22	6	2	0
Chemoterapija	227	204	182	159	140	118	101	85	57	36	18	9	1	0

### B

	Nivolumabas + ipilimumabas (n = 74)	Chemoterapija (n = 75)
Mediana, mėn. (95 proc. PI)	18,1 (12,2–22,8)	8,8 (7,4–10,2)
ŠS (96,6 proc. PI)	0,46 (0,31–0,68)	



#### Rizikos pacientai

	74	66	59	54	46	38	34	28	24	18	8	5	0	0
Nivolumabas + ipilimumabas	74	66	59	54	46	38	34	28	24	18	8	5	0	0
Chemoterapija	75	64	51	31	22	18	12	10	5	2	2	2	0	0

## 3 pav. Bendrasis išgyvenamumas, remiantis histologijos potipiu

Mažiausia stebėsenos trukmė 22,1 mėn.; stebėsenos mediana 29,7 mėn. Pacientai stratifikuoti pagal naviko histologiją: epitelioidinė ir neepitelioidinė PPM. Bendrojo išgyvenamumo ŠS epitelioidinės ir neepitelioidinės PPM atvejais: nivolumabo + ipilimumabo grupėje 0,93 (95 proc. PI 0,68–128), chemoterapijos grupėje 0,47 (0,35–0,63). ŠS – šansų santykis; PI – pasikliautinis intervalas; PPM – piktybinė pleuros mezotelioma.

# Farmakoterapija

6,8 mėn. (95 proc. PI 5,6–7,4), taikant gydymą nivolumabu ir ipilimumabu, ir 7,2 mėn. (95 proc. PI 6,9–8,0), taikant chemoterapinį gydymą (ŠS 1,00; 95 proc. PI 0,82–1,21). Tačiau dvejų metų išgyvenamumo be ligos progresavimo rezultatai buvo geresni nivolumabo ir ipilimumabo grupėje (16 proc.; 95 proc. PI 11,7–21,5), lyginant su chemoterapijos grupe (7 proc.; 95 proc. PI 4,0–11,7) (5 pav.).

Objektyvus atsakas patvirtintas 40 proc. nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir 43 proc. chemoterapijos grupėje (2 lentelė). Visiškas atsakas į gydymą nustatytas tik nivolumabo ir ipilimumabo gydymo grupėje – 2 proc. pacientų. Vidutinė atsako trukmė tarp visų patvirtinto atsako pacientų buvo 11,0 mėn. (95 proc. PI 8,1–16,5) nivolumabo ir ipilimumabo gydymo grupėje, lyginant su 6,7 mėn. (95 proc. PI 5,3–7,1) chemoterapijos grupėje (6 pav.). Dvejų metų atsako trukmė buvo 32 proc. (95 proc. PI 23–41) nivolumabo ir ipilimumabo grupėje, lyginant su 8 proc. (95 proc. PI 3–15) chemoterapijos grupėje.

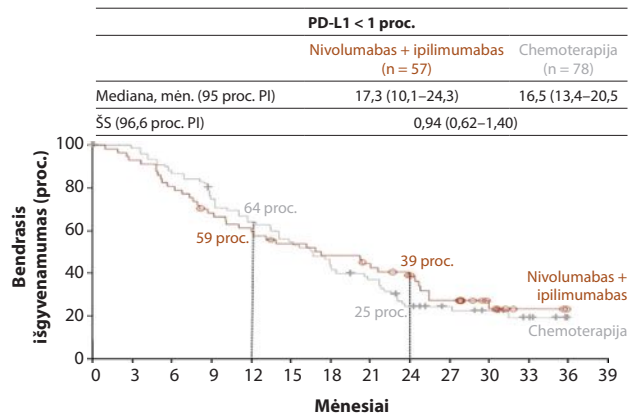
## SAUGUMAS

Remiantis klinikinio tyrimo CheckMate 743 duomenimis, skiriant gydymą nivolumabo ir ipilimumabo deriniu, saugumo rezultatai atitiko ankstesnių klinikinių tyrimų duomenis, kuomet minėta vaistų kombinacija skirta NSLPK gydymui atitinkama doze ir dažniu. Naujų saugumo reikalavimų nenustatyta.

Duomenų analizės metu iš 300 pacientų, kurių gydymui buvo skiriamas nivolumabas su ipilimumabu, 28 pacientams (9 proc. pacientų, gydytų nivolumabu ir ipilimumabu) gydymas buvo nutrauktas anksčiau. Gydomųjų dozių mažinimas imunoterapijos grupėje nebuvo leidžiamas. Chemoterapijos grupėje iš 31 pacientų buvo mažinama pemetreksedo, 17 proc. cisplatinos ir 41 proc. karboplatinės dozės.

Bet kokio laipsnio nepageidaujami poveikiai nustatyti 80 proc. pacientų, 3–4 laipsnio nepageidaujami poveikiai – 30 proc. pacientų, kuriems skirtas gydymas nivolumabu ir ipilimumabu, ir atitinkamai 82 proc. ir 32 proc. pacientų, gydytų chemoterapija. Bet kurio laipsnio su gydymu susiję nepageidaujami poveikiai, dėl kurių nutrauktas gydymas, nustatyti 23 proc. pacientų, gydytų nivolumabu ir ipilimumabu,

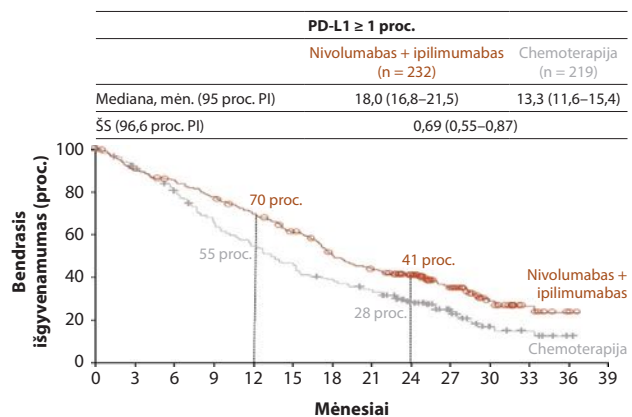
**A**



**Rizikos pacientai**

Nivolumabas + ipilimumabas	57	53	46	38	33	29	26	22	18	12	6	2	0	0
Chemoterapija	78	75	67	56	48	41	33	27	17	13	10	5	0	0

**B**



**Rizikos pacientai**

Nivolumabas + ipilimumabas	232	207	194	177	157	135	108	93	76	50	24	9	2	0
Chemoterapija	219	188	162	131	111	92	78	66	44	24	9	6	1	0

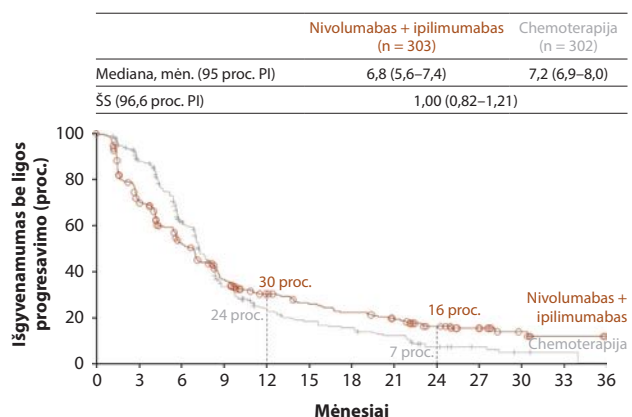
## 4 pav. Bendrasis išgyvenamumas, priklausomai nuo PD-L1 raiškos

Mažiausia stebėsenos trukmė 22,1 mėn.; stebėsenos mediana 29,7 mėn.

Pacientai nebuvo stratifikuoti pagal PD-L1 raišką.

Bendrojo išgyvenamumo ŠS, esant PD-L1 ≥ 1 proc. ir < 1 proc.: nivolumabas + ipilimumabas 0,87 (95 proc. PI 0,61–1,23); chemoterapija 1,18 (95 proc. PI 0,87–1,60).

ŠS – šansų santykis; PD-L1 – programuotos ląstelės žūties ligandas 1; PI – pasikliautinis intervalas; PPM – piktybinė pleuros mezotelioma.



**Rizikos pacientai**

Nivolumabas + ipilimumabas	303	198	135	89	64	52	45	36	22	15	7	2	0
Chemoterapija	302	222	144	71	44	33	27	21	10	6	3	1	0

## 5 pav. Išgyvenamumas be ligos progresavimo

Vertintas naudojant mRECIST ir (arba) RECIST 1.1.

PI – pasikliautinis intervalas.

ir 16 proc. pacientų, gydytų chemoterapija. Dažniausi bet kurio laipsnio su gydymu susiję nepageidaujami poveikiai buvo viduriavimas (21 proc.) nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir pykinimas (37 proc.) chemoterapijos grupėje. Dažniausi bet kurio laipsnio sunkūs su gydymu susiję nepageidaujami poveikiai buvo kolitas (3 proc.) nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir anemija (2 proc.) chemoterapijos grupėje. Dažniausi bet kurio laipsnio nepageidaujami poveikiai, susiję su imuninės sistemos aktyvumu, buvo susiję su odos (36 proc.) ir virškinamojo trakto (22 proc.) pažeidimu, pacientams, gydytiems nivolumabu ir ipilimumabu. Duomenų analizės metu 66 proc. pacientų, gavusių gydymą nivolumabo ir ipilimumabo deriniu, ir 75 proc. pacientų, gydytų chemoterapija, mirė. Dažniausia mirties priežastis – ligos progresavimas, atitinkamai 61 proc. ir 70 proc. Nivolumabo ir ipilimumabo gydymo grupėje nustatytos trys (1 proc.) su gydymu susijusios mirtys, sąlygotos pneumonito, encefalito ir širdies nepakankamumo. Chemoterapijos grupėje nustatyta 1 (< 1 proc.) su gydymu susijusi mirtis, sąlygota mielosupresijos.

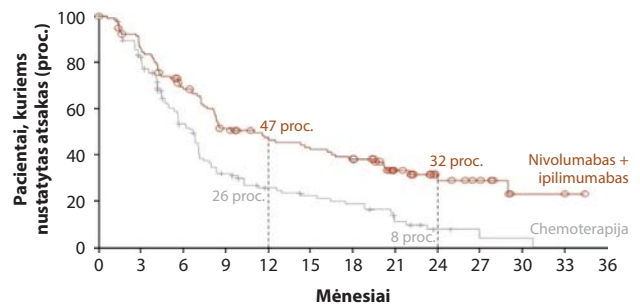
## DISKUSIJA

CheckMate 743 yra pirmasis didelės apimties, atsitiktinių imčių, trečiosios fazės klinikinis tyrimas, kurio rezultatais remiantis įrodytas kliniškai ir statistiškai reikšmingas bendrojo išgyvenamumo prailgėjimas taikant gydymą ipilimumabu ir nivolumabu, lyginant su įprastiniu klinikinio gydymo standartu – chemoterapija pirmaeiliam nerezektabilios PPM gydymui. Remiantis šio klinikinio tyrimo rezultatais, 2020 m. spalį FDA ir 2021 m. balandį EMA patvirtino nivolumabo ir ipilimumabo derinį pirmaeiliam nerezektabilios PPM gydymui [12, 13].

Remiantis šio klinikinio tyrimo rezultatais (vertinimas atliktas esant vidutinei 29,7 mėn. stebėsenos trukmei), nivolumabo ir ipilimumabo derinys suteikė ilgalaikį išgyvenamumo prailgėjimą, lyginant su chemoterapija, 50 proc. prailgindamas dvejų metų bendrąjį išgyvenamumą (41 proc., lyginant su 27 proc.). Be to, po dvejų metų gydymo atsakas buvo nustatytas tik 8 proc. pacientų, kuriems skirtas chemoterapinis gydymas, o gydymo nivolumabu ir ipilimumabu grupėje atsakas patvirtintas 32 proc. pacientų.

Vertinant gydymo ipilimumabu ir nivolumabu saugumą, nustatyta, kad nepaisant to, jog 3 ir 4 laipsnio sunkių su gydymu susijusių nepageidaujamų poveikių ir poveikių, sąlygojančių gydymo nutraukimą, dažnis buvo didesnis nivolumabo ir ipilimumabo grupėje, lyginant su chemoterapijos grupe, dauguma nepa-

Atsako trukmė		
	Nivolumabas + ipilimumabas (n = 120)	Chemoterapija (n = 129)
Mediana, mėn. (95 proc. PI)	11,0 (8,1–16,5)	6,7 (5,3–7,1)



### Rizikos pacientai

	120	98	74	54	45	41	37	21	12	8	2	2	0
Nivolumabas + ipilimumabas	120	98	74	54	45	41	37	21	12	8	2	2	0
Chemoterapija	129	99	57	33	23	19	16	8	3	1	1	0	0

## 6 pav. Atsako trukmė

Vidutinis laikas iki atsako buvo 2,7 mėn. nivolumabo ir ipilimumabo grupėje ir 2,5 mėn. chemoterapijos grupėje.

PI – pasikliautinis intervalas.

## 2 lentelė. Gydymo atsakas

Gydymo šaka	Nivolumabas ir ipilimumabas (n = 303)	Chemoterapija (n = 302)
Objektyvaus atsako dažnis, n (proc.)	120 (40)	129 (43)
95 proc. PI	34,1–45,4	37,1–48,5
<b>Geriausias bendras atsakas, n (proc.)</b>		
Visiškas atsakas	5 (2)	0
Dalinis atsakas	115 (38)	129 (43)
Stabili liga	112 (37)	125 (41)
Ligos progresavimas	55 (18)	14 (5)
Negalima vertinti	4 (1)	5 (2)
Nėra duomenų	12 (4)	26 (9)
Ligos kontrolės dažnis, n (proc.)	232 (77)	257 (85)
95 proc. PI	71,4–81,2	80,6–88,9
<b>Laikas iki atsako, mėn.</b>		
Mediana	2,7	2,5
Tarpkvartilinis plotis	1,45–3,27	1,41–3,02
<b>Atsako trukmė, mėn.</b>		
Mediana	11,0	6,7
95 proc. PI	8,1–16,5	5,3–7,1
<b>Išgyvenamumas</b>		
Vienų metų išgyvenamumas	47 proc.	26 proc.
95 proc. PI	37–56	18–34
Dvejų metų išgyvenamumas	32 proc.	8 proc.
95 proc. PI	23–41	3–15

n – atvejų skaičius; PI – pasikliautinis intervalas.

gaidaujamų poveikių buvo suvaldyti skiriant gliukokortikoidus arba palaikomąjį gydymą. Be to, kai su gydymu susijusių nepageidaujamų poveikių dažnis buvo koreguotas atsižvelgiant į gydymo trukmę, bendras nepageidaujamų poveikių, susijusių su gydymu nivolumabu ir ipilimumabu, dažnis buvo mažesnis nei skiriant chemoterapinį gydymą.

Gydymo nivolumabu ir ipilimumabu nauda nustatyta daugumoje vertintų pogrupių, išskyrus 75 metų



# Farmakoterapija

ir vyresnius pacientus. Tačiau reikėtų atsižvelgti į tai, kad ši grupė buvo maža ir statistiškai nereikšminga. Svarbu pažymėti, kad gydymo nauda buvo patvirtinta tiek esant epitelioidinei, tiek neepitelioidinei (sarkomatoidinei ir mišriai) PPM, nepaisant skirtingo šių pogrupių dydžio.

Vidutinis bendrasis išgyvenamumas be ligos progresavimo ir objektyvaus atsako dažnis buvo panašus abiejose gydymo grupėse. Chemoterapijos grupėje nustatyta greitesnė, bet ne ilgalaikė ligos kontrolė (vertinant išgyvenamumą be ligos progresavimo, Kaplan-Meier kreivės susikirto maždaug ties 8 mėn.). Bendrasis išgyvenamumas laikomas objektyvesniu ir patikimesniu rodikliu PPM atveju. Svarbu pažymėti, kad, remiantis šio klinikinio tyrimo rezultatais, patvirtinta ilgalaikė nivolumabo ir ipilimumabo gydymo nauda, o taikant chemoterapinę gydymą nustatytas tik nedidelis ankstyvojo išgyvenamumo pagerėjimas, kuris nebuvo tęstinis.

Kai kuriose gydymo rekomendacijose (pvz., NCCN rekomendacijose), pirmaeiliam PPM gydymui prie įprastinės chemoterapijos platinos pagrindu ir pemetreksedu rekomenduojama pridėti angiogenezės inhibitorių bevacizumabą. Ši rekomendacija paremta III fazės klinikinių tyrimų rezultatais, kuomet taikant minėtą gydymą nustatytas išgyvenamumo pagerėjimas [5, 10], tačiau ši indikacija nėra patvirtinta. Nors CheckMate 743 klinikinio tyrimo duomenimis nustatytas ilgalaikio išgyvenamumo pagerėjimas skiriant dvigubą imunoterapiją nivolumabu ir ipilimumabu, būtų tikslinga atlikti tolesnius klinikinius tyrimus, įvertinti galimą dar didesnę šio gydymo naudą kartu su kitais medikamentais, tokiais kaip angiogenezės inhibitorius bevacizumabas arba trumpas chemoterapijos kursas (kaip 2020 m. gegužę patvirtinta esant NSLPPK) [12].

Patikimi predikciniai žymenys, kurie leistų numatyti dvigubos biologinės terapijos naudą gydant PPM, nenustatyti. Nors PD-L1 yra žinomas kaip predikcinis žymuo skiriant imunoterapiją vienu preparatu NSLPPK gydymui [23], jo vaidmuo skiriant dvigubą imunoterapinę gydymą nepakankamai ištirtas. Vertinant klinikinių tyrimų duomenis, kuomet PPM gydymui taikyta imunoterapija, duomenys, susiję su PD-L1 raiška ir gydymo veiksmingumu – prieštaringi [18, 22]. CheckMate 743 klinikinio tyrimo duomenimis, ryšys tarp bendrojo išgyvenamumo ir PD-L1 raiškos nenustatytas. Tačiau PD-L1 raiška nebuvo stratifikuotas veiksnys ir PD-L1 raiškos grupės nebuvo gerai subalansuotos, todėl negalima daryti galutinės išvados dėl PD-L1 raiškos kaip tinkamo arba netinkamo prognostinio veiksnio. Tinkamesnis veiksnys šios heterogeniškos ligos apibūdinimui būtų transkriptominis ir epigenetinis profiliavimas, kuris ateityje galėtų padėti parinkti tinkamiausią gydymą kiekvienam pacientui ir identifikuoti naujus biologinius žymenis [24, 25].

## APIBENDRINIMAS

CheckMate 743 klinikinio tyrimo duomenimis, pirmaeilis gydymas nivolumabu kartu su ipilimumabu kliniškai ir statistiškai reikšmingai prailgino bendrojo išgyvenamumo rezultatus, lyginant su chemoterapija platinos pagrindu ir pemetreksedu. Ši gydymo schema yra veiksminga, turinti palankų klinikinės naudos ir rizikos santykį. Remiantis šio klinikinio tyrimo rezultatais, JAV FDA ir EMA patvirtino nivolumabo ir ipilimumabo derinį pirmaeiliam nerezektabilios PPM gydymui, nepriklausomai nuo histologinio potipio.

*Straipsnio publikaciją remia farmacijos kompanija  
“Bristol Myers Squibb”. BMS: REF-01301-1506.  
Teksto parengimo data: 2022 09*

## LITERATŪRA

1. Van Gerwen M, Alpert N, Wolf A, Ohri N, Lewis E, Rosenzweig KE, et al. Prognostic factors of survival in patients with malignant pleural mesothelioma: an analysis of the National Cancer Database. *Carcinogenesis*. 2019; 40:529–36.
2. Milano MT, Zhang H. Malignant pleural mesothelioma: a population-based study of survival. *J Thorac Oncol*. 2010; 5:1841–48.
3. Billé A, Krug LM, Woo KM, Rusch VW, Zauderer MG. Contemporary analysis of prognostic factors in patients with unresectable malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol*. 2016; 11:249–55.
4. Baas P, Fennell D, Kerr KM, Van Schil PE, Haas RL, Peters S. Malignant pleural mesothelioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015; 26 (5):v31–9.
5. Scherpereel A, Opitz I, Berghmans T, Psallidas I, Glatzer M, Rigau D, et al. ERS/ESTS/EACTS/ ESTRO guidelines for the management of malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J*. 2020; 55:1900953.
6. Santoro A, O'Brien ME, Stahel RA, Nackaerts K, Baas P, Karthaus M, et al. Pemetrexed plus cisplatin or pemetrexed plus carboplatin for chemo-naïve patients with malignant pleural mesothelioma: results of the International Expanded Access Program. *J Thorac Oncol*. 2008; 3:756–63.
7. Taylor P, Castagneto B, Dark G, Marangolo M, Scagliotti GV, Klaveren RJ, et al. Single-agent pemetrexed for chemo-naïve and pretreated patients with malignant pleural mesothelioma: results of an International Expanded Access Program. *J Thorac Oncol*. 2008; 3:764–71.
8. Vogelzang NJ, Rusthoven JJ, Symanowski J, Danham C, Kaukel E, Ruffie P, et al. Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol*. 2003; 21:2636–44.
9. Van Meerbeeck JP, Gaafar R, Manegold C, van Klaveren R J, van Marck E A, Vincent M, et al. Randomized phase III study of cisplatin with or without raltitrexed in patients with malignant pleural mesothelioma: an intergroup study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Group and the National Cancer Institute of Canada. *J Clin Oncol*. 2005; 23:6881–89.
10. Zalcman G, Mazières J, Margery J, Greillier L, Audigier-Valette C, Moro-Sibilot D, et al. Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2016; 387:1405–14.
11. Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental mechanisms of immune checkpoint blockade therapy. *Cancer Discov*. 2018; 8:1069–86.
12. Bristol Myers Squibb. OPDIVO (nivolumab) prescribing information. US Food and Drug Administration, December, 2020. Available at: [https://packageinserts.bms.com/pi/pi\\_opdivo.pdf](https://packageinserts.bms.com/pi/pi_opdivo.pdf) [date last accessed: August 30, 2022].

13. OPDIVO (nivolumab) prescribing information. European medical agency, November 2018. Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop/chmp-post-authorisation-summary-positive-opinion-opdivo-ws-1881\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop/chmp-post-authorisation-summary-positive-opinion-opdivo-ws-1881_en.pdf) [date last accessed: August 30, 2022].
14. **Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J J, Rutkowski P, Lao C D et al.** Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med.* 2019; 381:1535–46.
15. **Motzer RJ, Rini BI, McDermott DF, Frontera OA, Hammers HJ, Corducci MA, et al.** Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma: extended follow-up of efficacy and safety results from a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019; 20:1370–85.
16. **Hellmann MD, Paz-Ares L, Bernabe Caro R, Zurawski B, Kim SW, Costa EC, et al.** Nivolumab plus ipilimumab in advanced non-small cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2019; 381:2020–31.
17. **Scherpereel A, Mazieres J, Greillier L, Lantuejoul S, Do P, Bylicki O, et al.** Nivolumab or nivolumab plus ipilimumab in patients with relapsed malignant pleural mesothelioma (IFCT-1501 MAPS2): a multicentre, open-label, randomised, non-comparative, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2019; 20:239–53.
18. **Disselhorst MJ, Quispel-Janssen J, Lalezari F, Monkhorst K, de Vries JE, van der Noort V, et al.** Ipilimumab and nivolumab in the treatment of recurrent malignant pleural mesothelioma (INITIATE): results of a prospective, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Respir Med.* 2019; 7:260–70.
19. **Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis T E, McFadden ET, et al.** Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982; 5:649–55.
20. **Byrne MJ, Nowak AK.** Modified RECIST criteria for assessment of response in malignant pleural mesothelioma. *Ann Oncol.* 2004; 15:257–60.
21. US Department of Health and Human Services, Food and Drugs Administration, Oncology Center of Excellence, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). Clinical trial endpoints for the approval of cancer drugs and biologics. December, 2018. Available at: <https://www.fda.gov/media/71195/download> [date last accessed: August 30, 2022].
22. **Calabrò L, Morra A, Giannarelli D, Amati G, D’Incecco A, Covre A, et al.** Tremelimumab combined with durvalumab in patients with mesothelioma (NIBIT-MESO-1): an open-label, non-randomised, phase 2 study. *Lancet Respir Med.* 2018; 6:451–60.
23. **Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R., Csösz T, Fülöp A, et al.** Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2016; 375:1823–33.
24. **Blum Y, Meiller C, Quétel L, Elarouci N, Ayadi M, Tashtanbaeva D, et al.** Dissecting heterogeneity in malignant pleural mesothelioma through histo-molecular gradients for clinical applications. *Nat Commun.* 2019; 10:1333.
25. **Mansfield AS, Peikert T, Smadbeck JB, Udell JBM, Garcia-Rivera E, Erskine CL, et al.** Neoantigenic potential of complex chromosomal rearrangements in mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2019; 14:276–87.

# Išplitusio nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio, kuomet nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje, pirmaeilis gydymas pembrolizumabu kartu su chemoterapija

FIRST-LINE TREATMENT WITH PEMBROLIZUMAB PLUS CHEMOTHERAPY IN ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER WITHOUT TUMOR PD-L1 EXPRESSION

JURGITA MATULIONĖ  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Navikai gamina baltymą, vadinamą programuotos ląstelių žūties baltymo ligandu (PD-L1), kuris sąveikauja su organizmo imuninėmis ląstelėmis ir užkerta kelią imuniniam atsakui prieš vėžį. Imuninės kontrolės taško inhibitoriai, tokie kaip pembrolizumabas, prisijungia prie programuotos ląstelės žūties baltymo (PD-1) receptoriaus ir blokuoja jo sąveiką su ligandais PD-L1 ir PD-L2 bei aktyvina imuninį atsaką. Pembrolizumabas yra pirmasis PD-1 inhibitorius, patvirtintas išplitusio arba metastazavusio nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio (NSLPV) monoterapijai, kuomet navikiniame audinyje nustatyta didelė PD-L1 raiška. Pembrolizumabą skiriant kartu su chemoterapija, kuri gali stimuliuoti priešvėžinį imuninį atsaką, jo veiksmingumas nepriklauso nuo PD-L1 raiškos navikiniame audinyje. Tyrimai parodė, kad pembrolizumabas ir chemoterapija lemia geresnį sergančiųjų su išplitusiu arba metastazavusiu NSLPV atsaką ir išgyvenamumą, lyginant su gydymu vien chemoterapija, esant neigiamai PD-L1 raiškai, ir yra pirmosios eilės gydymo standartas sergantiesiems išplitusiu arba metastazavusiu NSLPV, neatsižvelgiant į PD-L1 raišką.

**Reikšminiai žodžiai:** pembrolizumabas, nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys, imunoterapija, programuotos ląstelių žūties baltymo ligandas.

**Summary.** Some tumors produce a protein called programmed death ligand 1 (PD-L1), which interacts with the body's immune cells and prevents an immune response against cancer. Immune checkpoint inhibitors such as pembrolizumab binds to the programmed cell death protein-1 (PD-1) receptor, blocks its interaction with ligands PD-L1 and PD-L2 and enables an immune response. Pembrolizumab is the first PD-1 inhibitor, approved for advanced or metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) monotherapy for patients with tumors that produce high PD-L1 level. However, when it is combined with chemotherapy, which can stimulate anticancer immune responses, pembrolizumab provides a benefit, regardless of tumor PD-L1 production. In clinical trials pembrolizumab plus chemotherapy demonstrated response and survival improvements in comparison with chemotherapy alone in PD-L1-negative advanced or metastatic NSCLC, and it is a standard-of-care first-line therapy for patients with advanced NSCLC, regardless of PD-L1 expression.

**Keywords:** pembrolizumab, non-small cell lung cancer; immunotherapy, programmed cell death ligand 1.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1027>

### IVADAS

Programuotos ląstelių žūties baltymo 1 (PD-1) ir jo ligando (PD-L1) inhibitoriai yra naujas ir veiksmingas metastazavusio nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžio (NSLPV) gydymo būdas, kuomet navikiniame audinyje nenustatyta epidermio augimo veiksnio receptoriaus (EGFR) geno mutacijų arba anaplastinės limfomos kinazės (ALK) translokacijų. PD-1 inhibitoriaus pembrolizumabo veiksmingumas išplitusiu NSLPV sergantiesiems, kurių navikiniame audinyje nustatyta didelė

(≥ 50 proc.) PD-L1 raiška, įrodytas 1b fazės klinikinio tyrimo KEYNOTE-001 metu [1]. Remiantis III fazės klinikinių tyrimų KEYNOTE-024 ir KEYNOTE-042 rezultatais, pembrolizumabas tapo pirmos eilės gydymo standartu išplitusiu NSLPV sergantiesiems, kurių navikiniame audinyje nustatyta ≥ 50 proc. PD-L1 raiška [2], ir pacientams, kurių PD-L1 raiška ≥ 1 proc. [3], kai nenustatyta EGFR geno mutacijų arba ALK translokacijų. Deja, tik mažumai NSLPV sergančiųjų navikiniame audinyje nustatoma didelė PD-L1 raiška [4].

Antros eilės gydymą gauna mažiau nei pusė išplitusiu NSLPV sergančių asmenų dėl greito simptomų ir funkcinės būklės blogėjimo progresuojant ligai. Pirmos eilės kombinuotas gydymas kartu su chemoterapija skiriant PD-1 arba PD-L1 inhibitorius gali pagerinti atsaką į gydymą ir prailginti išgyvenamumą. Chemoterapiniai preparatai pasižymi imuninę sistemą moduluojamosiomis savybėmis, jie stimuliuoja imuninį atsaką, didina naviko imunogeniškumą [5, 6]. Chemoterapija, skiriama kartu su pembrolizumabu, padidina tikimybę, kad pembrolizumabas bus veiksmingas nepriklausomai nuo PD-L1 raiškos navikiniame audinyje. 1/2 fazės klinikinio tyrimo KEYNOTE-021 metu G kohortoje nesmulkiųjų neplokščiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergantiesiems, kuriems aptikta EGFR geno mutacijų arba ALK translokacijų, nustatytas žymiai pagerėjęs bendrasis atsakas į gydymą (angl. *overall response rate*) skiriant pembrolizumabą su pemetreksedu ir karboplatina, lyginant su vien tik chemoterapija [7]. III fazės KEYNOTE-189 klinikinis tyrimas parodė, kad pembrolizumabas su pemetreksedu ir karboplatina arba cisplatina lėmė reikšmingai ilgesnę gyvenimo trukmę be ligos progresavimo ir bendrąjį išgyvenamumą [4]. Remdamasi šio tyrimo rezultatais, Europos vaistų agentūra (angl. *European Medicines Agency*, EMA) 2018 m. patvirtino pembrolizumabo derinio su pemetreksedu ir platinos vaistiniais preparatais skyrimo indikaciją pirmos eilės metastazavusio nesmulkiųjų neplokščiųjų ląstelių plaučių vėžio gydymui, nesant nustatytų EGFR mutacijų arba ALK translokacijų. III fazės KEYNOTE-407 tyrimas parodė reikšmingai pagerėjusį bendrąjį išgyvenamumą ir išgyvenamumą be ligos progresavimo skiriant pembrolizumabą su karboplatina ir paklitakseliu arba nab-paklitakseliu IV stadijos plokščiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergantiesiems [8]. 2018 m. Jungtinių Amerikos Valstijų Maisto ir vaistų administracija (angl. *U.S. Food and Drug Administration*, FDA), o vėliau ir Europos vaistų agentūra patvirtino pembrolizumabo su karboplatina ir paklitakseliu arba nab-paklitakseliu skyrimą pirmaeiliam IV stadijos plokščiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergančiųjų gydymui.

KEYNOTE-021 G kohortos, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 klinikinių tyrimų metu pembrolizumabo ir chemoterapijos platinos pagrindu derinys buvo gerai toleruojamas ir pagerino klinikinius rezultatus tiek pacientams, kurių navikiniame audinyje nustatyta PD-L1 raiška ( $\geq 1$  proc.), tiek tiems, kuriems nenustatyta PD-L1 raiška ( $< 1$  proc.) [8]. Pembrolizumabo ir chemoterapijos su platinos vaistiniais preparatais derinys dabar yra metastazavusio NSLPV standartinis gydymo būdas, kuomet nenustatyta EGFR geno mutacijų arba ALK translokacijų, neatsižvelgiant į naviko histologiją arba PD-L1 raišką [9]. Siekiant įvertinti pembrolizumabo ir chemoterapijos derinio veiksmingumą ir

saugumą, palyginus su vien chemoterapija išplitusiu NSLPV sergantiesiems, kuriems nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje, atlikta klinikinių tyrimų KEYNOTE-021 G kohortos, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 jungtinė duomenų analizė.

## **KLINIKINIAI TYRIMAI: KEYNOTE-021 G kohorta, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407**

Sujungti ir išanalizuoti pacientų duomenys iš trijų tarptautinių, daugiacentrių, atsitiktinių imčių NSLPV klinikinių tyrimų: 1/2 fazės KEYNOTE-021 klinikinio tyrimo G kohortos (IIIB–IV stadija, neplokščiųjų ląstelių) ir III fazės metastazavusio NSLPV tyrimų: KEYNOTE-189 (neplokščiųjų ląstelių) ir KEYNOTE-407 (plokščiųjų ląstelių) [10]. Į šiuos klinikinius tyrimus įtraukti vyresni nei 18 metų, geros funkcinės būklės (ECOG 0–1 balų) pacientai, sergantys histologiškai arba citologiškai patvirtintu išplitusiu NSLPV, turintys vieną arba daugiau matuojamų darinių, kuriuos būtų galima vertinti pagal RECIST 1.1 versiją (angl. *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*). Neįtraukimo kriterijai: anksčiau skirtas sisteminis NSLPV gydymas, simptomais pasireiškiančios centrinės nervų sistemos (CNS) metastazės; aktyvi autoimuninė liga, kurios gydymui dvejų metų laikotarpiu skirti imunosupresiniai vaistai; aktyvi intersticinė plaučių liga arba skirtas gydymas sisteminiais gliukokortikoidais dėl pneumonito. Į KEYNOTE-021 tyrimo G kohortą ir KEYNOTE-189 tyrimą taip pat neįtraukti pacientai, kuriems nustatytos aktyvuojamosios EGFR geno mutacijos arba ALK translokacijos. Visuose tyrimuose reikėjo navikinio audinio biopsijos PD-L1 analizei.

KEYNOTE-021 G kohortos pacientai atsitiktine tvarka 1:1 buvo suskirstyti į pemetreksedo, karboplatinos ir pembrolizumabo arba tik pemetreksedo ir karboplatinos grupes. Pembrolizumabas skirtas kas tris savaites iki 35 kursų (dvejų metų). Po keturių chemoterapijos gydymo kursų buvo tęsiamas palaikomasis gydymas pemetreksedu [7]. Vykdamas atsitiktinę atranką stratifikuota pagal PD-L1 raišką ( $< 1$  proc. arba  $\geq 1$  proc.). KEYNOTE-189 klinikinio tyrimo pacientai atsitiktine tvarka santykiu 2:1 suskirstyti į pembrolizumabo arba placebo grupes; gydymas skirtas kas tris savaites 35 ciklus. Abi gydymo grupės gavo keturis pemetreksedo su karboplatina arba cisplatina kursus, po kurių skirtas palaikomasis gydymas pemetreksedu. Vykdamas atsitiktinę atranką buvo skirstoma pagal PD-L1 raišką ( $< 1$  proc. arba  $\geq 1$  proc.), platinos vaistinio preparato pasirinkimą (karboplatina arba cisplatina) ir rūkymo istoriją (rūkantis, anksčiau rūkęs ir niekada nerūkęs). Klinikinio tyrimo KEYNOTE-407 pacientai atrinkti atsitiktine tvarka ir santykiu 1:1 suskirstyti į pembrolizumabo arba placebo grupes (skiriant kas tris savaites 35 ciklus). Abiejų grupių tiriamiesiems skirti keturi karboplatinos ir paklitakselio arba nab-pakli-

# Farmakoterapija

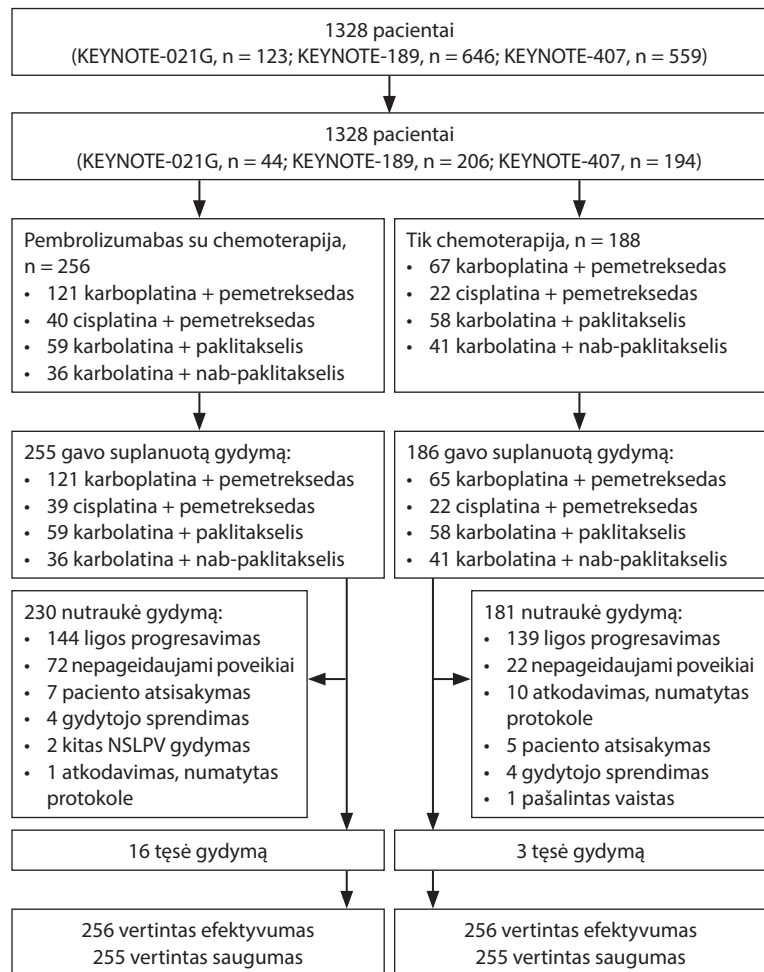
takselio gydymo kursai. Stratifikuota pagal PD-L1 raišką (< 1 proc. arba ≥ 1 proc.), taksano pasirinkimą (paklitakselis arba nab-paklitakselis) ir geografinį regioną (Rytų Azija arba likęs pasaulis). Visų šių klinikinių tyrimų metu pembrolizumabas (200 mg) buvo skiriamas kas tris savaites iki 35 gydymo ciklų (dvejų metų) arba iki ligos pablogėjimo, nepriimtino toksiškumo, gydytojo sprendimo nutraukti gydymą arba paciento atsisakymo dalyvauti tyrime. Radiologiškai patvirtinus ligos progresavimą KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 klinikinių tyrimų pacientams, gydytiems tik chemoterapija, buvo leidžiama skirti pembrolizumabo monoterapiją (persidengiantis gydymas, angl. *crossover*), jei atitiko protokole nurodytus saugumo kriterijus.

Visiems pacientams PD-L1 raiška buvo vertinama centralizuotai formaliniu fiksuotuose naviko audiniuose iš naujai paimtų arba archyvinių mėginių. Radiologiniai tyrimai buvo atliekami 6 ir 12 savaitę (KEYNOTE-021 tyrimo G kohortoje ir KEYNOTE-407 papildomai 18 savaitę), po to kas 9 savaites per likusį pirmųjų metų laikotarpį KEYNOTE-021 G kohortoje, iki 48 savaitės KEYNOTE-189 ir iki 45 savaitės KEYNOTE-407. Vėliau radiologiniai tyrimai buvo atliekami kas 12 savaitę. Stebėjimo laikotarpiu KEYNOTE-021 tyrimo G kohortoje išgyvenamumas buvo vertinamas kas 8 savaites, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 tyrimuose – kas 12 savaitę.

KEYNOTE-021 tyrimo G kohortos pirminis tyrimo tikslas buvo objektyvus atsako dažnis, o pagrindinis antrinis tikslas – išgyvenamumas be ligos progresavimo. Bendrasis išgyvenamumas ir išgyvenamumas be ligos progresavimo buvo pirminiai KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 tyrimų tikslai, o pagrindiniai antriniai: objektyvus atsako dažnis ir atsako trukmė. Visuose tyrimuose antras išgyvenamumo be ligos progresavimo (angl. *progression free survival 2*, PFS-2) taškas buvo apibrėžtas kaip laikas nuo atsitiktinės atrankos iki antro ligos progresavimo etapo, skiriant kitos eilės gydymą (taip pat ir dubliuojamą gydymą pembrolizumabu), arba mirties nuo bet kokios priežasties (atsižvelgiant į tai, kas įvyko anksčiau). Gydymo veiksmingumas buvo analizuojamas ketintų gydyti pacientų populiacijoje, o saugumas – vieną arba daugiau tiriamojo vaisto dozių gavusių pacientų populiacijoje.

## REZULTATAI

Iš KEYNOTE-021 G kohortos, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407 klinikinių tyrimų analizei atrinkti 444



## 1 pav. Tiriamieji

NSLPPV – nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys.

pacientai (33,4 proc.), kuriems nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje. Tiriamieji, kuriems nebuvo įvertinta PD-L1 raiška, į analizę neįtraukti. 256 pacientai gydyti pembrolizumabu ir chemoterapija, o 188 – vien chemoterapija (1 pav.). Vieną arba daugiau vaistų dozių gavo 255 tiriamieji pembrolizumabo su chemoterapija grupėje ir 186 vien chemoterapijos grupėje (1 pav.). Dažniausiai gydymas nutrauktas dėl ligos progresavimo ir nepageidaujamų poveikių. Tyrimo metu 57,4 proc. vien chemoterapijos grupės pacientų vėliau skirta monoterapija pembrolizumabu ir (arba) gavo anti-PD-L1 gydymą nesidubliuojančio gydymo metu.

Atliekant duomenų analizę, vidutinis stebėsenos laikotarpis buvo 28,0 mėn. (nuo 14,7 iki 55,4 mėn.). Tuo metu 311 iš 444 tiriamųjų (70 proc.) buvo mirę. Nustatytas reikšmingai prailgėjęs bendrasis išgyvenamumas (šansų santykis (ŠS) 0,63; 95 proc. pasikliautinis intervalas (PI) 0,50–0,79) pembrolizumabo su chemoterapija grupėje, lyginant su vien chemoterapijos grupe. Vidutinis bendrasis išgyvenamumas pembrolizumabo su chemoterapija grupėje siekė 19,0 mėn. (95 proc. PI

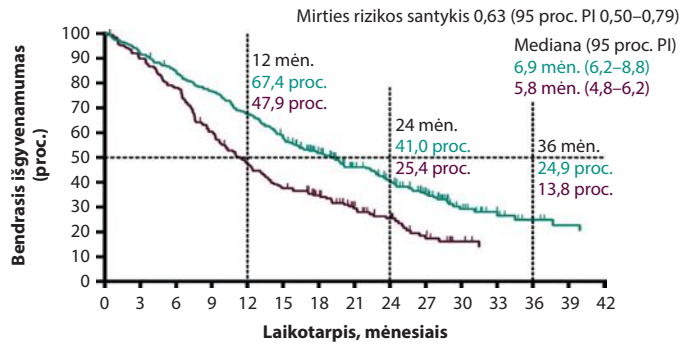
15,5–22,8 mėn.), vien chemoterapijos grupėje – tik 11,4 mėn. (95 proc. PI 9,4–13,5) (2 pav.). Po 12 ir 24 mėn. atitinkamai gyvi buvo 67,4 proc. ir 41,0 proc. pacientų pembrolizumabo su chemoterapija grupėje bei 47,9 proc. ir 25,4 proc. vien chemoterapijos grupėje. Visuose analizuotuose pogrupiuose statistiškai ilgesnis bendrasis išgyvenamumas stebėtas pembrolizumabo su chemoterapija grupėje, lyginant su vien chemoterapija.

Duomenų vertinimo metu ligos blogėjimo arba mirties atvejai nustatyti 386 iš 444 pacientų. Pembrolizumabas su chemoterapija reikšmingai prailgino išgyvenamumą be ligos progresavimo, kuris siekė 6,9 mėn. (95 proc. PI 6,2–8,8) pembrolizumabo su chemoterapija grupėje ir 5,8 mėn. (95 proc. PI 4,8–6,2) vien chemoterapijos grupėje (ŠS 0,68; 95 proc. PI 0,56–0,83) (3A pav.). Po 12 ir 24 mėn. išgyvenamumo be ligos progresavimo dažnis atitinkamai buvo 32,8 proc. ir 19,3 proc. pembrolizumabo su chemoterapija grupėje bei 17,1 proc. ir 8,5 proc. vien chemoterapijos grupėje. Pembrolizumabas su chemoterapija prailgino ir antrąjį išgyvenamumo be ligos progresavimo laikotarpį, palyginus su vien chemoterapijos grupe, atitinkamai 14,5 mėn. (95 proc. PI 12,6–15,9) ir 9,1 mėn. (95 proc. PI 7,6–10,2), ŠS buvo 0,57 (95 proc. PI 0,46–0,70) (3B pav.).

Objektyvaus atsako dažnis buvo didesnis gydant pembrolizumabu su chemoterapija (50,0 proc.; 95 proc. PI 43,7–56,3), nei skiriant vien chemoterapiją (29,8 proc.; 95 proc. PI 23,4–36,9). Vidutinė atsako trukmė pembrolizumabo su chemoterapija grupėje buvo 8,5 (1,1 + iki 46,0) mėn. ir 6,9 (1,4 + iki 30,1 +) mėn. vien chemoterapijos gydymo grupėje.

Patvirtinus ligos progresavimą, dubliuojamas gydymas pembrolizumabu skirtas 73 pacientams, kurie prieš tai gydyti tik chemoterapija. Šių pacientų bendrasis išgyvenamumas nuo pembrolizumabo skyrimo pradžios buvo 6,3 mėn. (95 proc. PI 4,8–7,7), o išgyvenamumas be ligos progresavimo 2,6 mėn. (95 proc. PI 2,0–2,8).

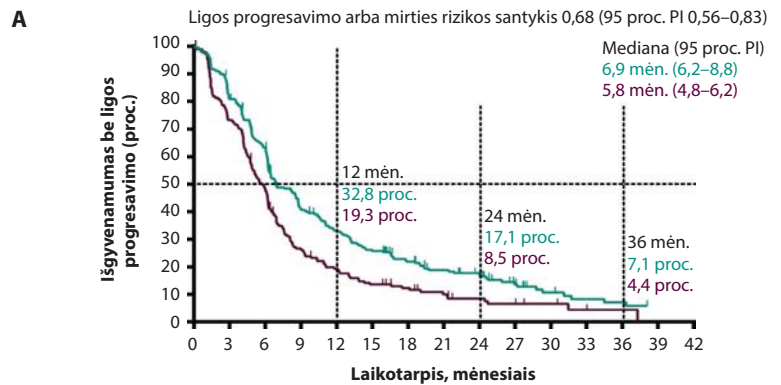
Pembrolizumabo ir chemoterapijos grupėje 16 pacientų (6,3 proc.) baigė dvejų metų gydymą. Jų objektyvaus atsako į gydymą dažnis siekė 87,5 proc. (95 proc. PI 61,7–98,4); dviems pacientams nustatytas visiškasis atsakas, 12 – dalinis atsakas, dar



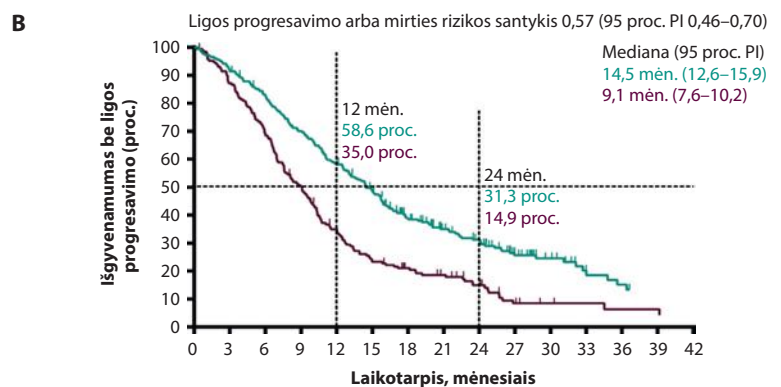
Rizikos grupės pacientai											
Pembrolizumabas kartu su chemoterapija	256	234	215	195	171	146	118	92	77	53	27
Vien chemoterapija	188	168	146	112	88	69	56	39	28	16	9

**2 pav. Pacientų, kurių navikiniame audinyje nustatyta neigiama PD-L1 raiška (<1 proc.), bendrojo išgyvenamumo duomenys (pembrolizumabo derinio su chemoterapija grupės pacientų, palyginus su vien chemoterapijos grupe)**

PD-L1 – programuotos ląstelių žūties baltymo ligandas, PI – pasikliautinis intervalas.



Rizikos grupės pacientai											
Pembrolizumabas kartu su chemoterapija	256	205	158	101	79	62	45	35	29	16	10
Vien chemoterapija	188	137	90	48	34	24	19	13	9	5	4



Rizikos grupės pacientai											
Pembrolizumabas kartu su chemoterapija	256	234	209	177	147	119	87	67	56	34	20
Vien chemoterapija	188	163	128	93	63	42	34	28	18	8	5

**3 pav. Pacientų, kurių navikiniame audinyje nustatyta neigiama PD-L1 raiška (<1 proc.), išgyvenamumo be ligos progresavimo duomenys: A) Išgyvenamumas be ligos progresavimo (pembrolizumabo ir chemoterapijos grupės pacientų, palyginus su tik chemoterapijos grupe); B) Antro etapo išgyvenamumo be ligos progresavimo duomenys (pembrolizumabo ir chemoterapijos grupės pacientų, palyginus su tik chemoterapijos grupe)**

PD-L1 – programuotos ląstelių žūties baltymo ligandas, PI – pasikliautinis intervalas.

# Farmakoterapija

dviems – stabili liga. Vidutinė atsako trukmė buvo 46,0 (7,6–46,0) mėn., o išgyvenamumas be ligos progresavimo siekė 47,4 mėn. (95 proc. PI 15,9–47,4). Visi šios grupės pacientai buvo gyvi duomenų analizės metu.

Gydymo laikotarpiu nepageidaujami poveikiai pasireiškė 99,2 proc. pacientų pembrolizumabo su chemoterapija grupėje ir 98,9 proc. tiriamųjų vien chemoterapijos grupėje. Dažniausi nepageidaujami poveikiai abiejuose grupėse buvo anemija ir pykinimas. Su gydymu susiję 3–5 laipsnio nepageidaujami poveikiai nustatyti 182 pacientams (71,4 proc.) ir 134 pacientams (72,0 proc.), atitinkamai pembrolizumabo su chemoterapija ir vien chemoterapijos grupėse. Nuo gydymo sukeltų nepageidaujamų poveikių mirė trylika (5,1 proc.) pembrolizumabu ir chemoterapija gydytų pacientų ir trys pacientai (1,6 proc.), kuriems skirta vien chemoterapija. Su imunine sistema susiję nepageidaujami poveikiai ir infuzinės reakcijos dažniau pasireiškė pembrolizumabo su chemoterapija grupėje nei vien chemoterapijos grupėje, atitinkamai 29,0 proc. ir 12,4 proc. pacientų. Dažniausi su imunine sistema susiję nepageidaujami poveikiai pembrolizumabo su chemoterapija grupėje buvo hipotirozė, pneumonitas ir hipertirozizmas. Dviems pacientams (0,8 proc.) pembrolizumabo ir chemoterapijos grupėje pasireiškė 5 laipsnio pneumonitas.

## APTARIMAS

Jungtinė trijų klinikinių tyrimų analizė parodė reikšmingą klinikinę naudą ir saugumą skiriant pembrolizumabo ir chemoterapijos platinos pagrindu derinį pirmaeiliam NSLPV gydymui, esant neigiamai PD-L1 raiškai navikiniame audinyje. Pembrolizumabo su chemoterapija derinys ženkliai sumažino mirties riziką (ŠS 0,63) ir pagerino bendrąjį išgyvenamumą apie 8 mėn. (19,0 mėn., palyginus su 11,4 mėn.); taip pat pagerino išgyvenamumą be ligos progresavimo (ŠS 0,68), antrąjį išgyvenamumo be ligos progresavimo laikotarpį (ŠS 0,57) ir objektyvaus atsako dažnį (50,0 proc., palyginus su 29,8 proc.). Pembrolizumabo su chemoterapija grupės pacientams, baigusiems dvejų metų gydymą pembrolizumabu, nustatyta ilgalaikė gydymo nauda, visi pacientai buvo gyvi duomenų analizės metu. Šie rezultatai patvirtina pembrolizumabo su chemoterapija derinį kaip standartinį pirmos eilės gydymą išplitusiu NSLPV sergantiesiems, esant neigiamai PD-L1 raiškai navikiniame audinyje ir nenustačius EGFR mutacijų arba ALK geno translokacijų.

Tiek pirmos eilės [1, 2], tiek antros eilės [11] monoterapija pembrolizumabu prailgino bendrąjį išgyvenamumą tik pacientams, kurių navikiniame audinyje nustatyta PD-L1 raiška  $\geq 1$  proc., o pacientams, kuriems nustatyta didelė PD-L1 raiška ( $\geq 50$  proc.), pembrolizumabo nauda buvo dar žymesnė [3, 11]. Anksčiau bevacizumabas ir necitumumabas

buvo vieninteliai biologinės terapijos vaistai, kurie skiriami kartu su chemoterapija platinos pagrindu prailgino bendrąjį išgyvenamumą (apie 2 mėn.) išplitusiu nesmulkiųjų neplokščiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergantiesiems (ŠS 0,79) [12] ir išplitusiu plokščiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergantiesiems (ŠS 0,84) [13]. Šios analizės rezultatai rodo pembrolizumabo su chemoterapija klinikinę naudą (prailgėjusį bendrąjį išgyvenamumą) NSLPV sergantiesiems, kuriems nustatyta neigiama PD-L1 raiška (populiacija, kuriai reikalingos geresnės gydymo galimybės). Šie rezultatai rodo sinergistinę imunoterapijos ir chemoterapijos poveikį NSLPV. Pembrolizumabas, skiriamas kartu su chemoterapiniais vaistais, gali būti veiksmingas nepriklausomai nuo PD-L1 raiškos [5, 6]. Pembrolizumabas su chemoterapija platinos pagrindu neabejotinai yra gydymo standartas sergantiesiems išplitusiu arba metastazavusiu NSLPV, kuomet nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje.

Pembrolizumabas su chemoterapija pagerino ne tik bendrąjį išgyvenamumą, išgyvenamumą be ligos progresavimo, objektyvaus atsako dažnį, bet ir antrąjį išgyvenamumo be ligos progresavimo laikotarpį, lyginant su vien chemoterapija. Tai rodo, kad pirmos eilės gydymo pembrolizumabu su chemoterapijos nauda išlieka skiriant antros eilės gydymą. Bendrasis išgyvenamumas ir išgyvenamumas be ligos progresavimo skiriant monoterapiją pembrolizumabu po chemoterapinio gydymo (dubliuojamo gydymo metu) prailgėjo atitinkamai 6 mėn. ir 3 mėn. Antrasis išgyvenamumo be ligos progresavimo laikotarpis (ŠS 0,57) buvo trumpesnis nei išgyvenamumo be ligos progresavimo (0,68), nepaisant to, kad didelė dalis (57,4 proc.) vien chemoterapijos pacientų vėliau gavo anti-PD-L1 gydymą [10]. Šie duomenys patvirtina poreikį pembrolizumabą kartu su chemoterapija skirti pirmaeiliam gydymui, siekiant ankstyvos ligos kontrolės ir ilgalaikės klinikinės naudos.

Ši trijų klinikinių tyrimų bendra analizė yra didžiausias imunoterapijos su chemoterapija gydymo rezultatų įvertinimas išplitusiu NSLPV sergantiesiems, kuriems nustatyta neigiama PD-L1 raiška navikiniame audinyje. Bendra retrospektyvinė duomenų analizė buvo galima, nes kiekviename iš šių tyrimų (KEYNOTE-021 G kohorta, KEYNOTE-189 ir KEYNOTE-407) PD-L1 buvo perspektyviai įvertintas stratifikacijos veiksnys.

## APIBENDRINIMAS

Apibendrinant galima pasakyti, kad trijų klinikinių tyrimų bendra analizė parodė reikšmingai geresnį išplitusiu NSLPV sergančiųjų, kurių navikiniame audinyje nustatyta neigiama PD-L1 raiška, bendrąjį išgyvenamumą, išgyvenamumą be ligos progresavimo ir objektyvaus atsako dažnį, gydymui skiriant pembrolizumabą su chemoterapija, palyginus su vien chemo-

terapija. Ši gydymo schema pasižymi geru saugumo profiliu. Pembrolizumabas ir chemoterapija platinos pagrindu yra pirmos eilės gydymo standartas tiek plokščiųjų, tiek neplokščiųjų ląstelių metastazavusių plaučių vėžiu sergantiesiems, netgi nustačius neigiamą PD-L1 raišką. Šių metų rugsėjį Paryžiuje vykusiame Europos onkologų draugijos kongrese (angl. *European Society of Medical Oncology*, ESMO) paskelbti atnaujinti penkerių metų stebėsenos duomenys, kurie parodė išliekančią gydymo pembrolizumabu su chemoterapija naudą sergantiesiems išplitusiu NSLPV, nepriklausomai nuo PD-L1 raiškos. Šio derinio nauda stebėta net esant dideliame gydymo šakų persidėgimo dažniui. Pacientams, gavusiems 35 pembrolizumabo gydymo kursus, nustatytas besitęsiantis atsakas – didžioji dalis jų buvo gyvi praėjus trejiems metams nuo pembrolizumabo skyrimo pradžios. Ilgalaiškės stebėsenos duomenys patvirtina pembrolizumabo ir chemoterapijos derinį kaip pirmos eilės gydymo standartą išplitusiu NSLPV sergantiesiems.

LT-KEY-00194

## LITERATŪRA

1. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leigh N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015; 372:2018–28.
2. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Czoszi T, Fulop A, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1 positive non-small cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016; 375:1823–33.
3. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1 expressing, locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2019; 393:1819–30.
4. Gandhi L, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018; 378:2078–92.
5. Kersten K, Salvagno C, de Visser KE. Exploiting the immunomodulatory properties of chemotherapeutic drugs to improve the success of cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2015; 6:516.
6. Galluzzi L, Zitvogel L, Kroemer G. Immunological mechanisms underneath the efficacy of cancer therapy. *Cancer Immunol Res*. 2016; 4:895–902.
7. Langer CJ, Gadgeel SM, Borghaei H, Papadimitrakopoulou VA, Patnaik A, Powell SF, et al. Carboplatin and pemetrexed with or without pembrolizumab for advanced, non-squamous non-small cell lung cancer: a randomised, phase 2 cohort of the open-label KEYNOTE-021 study. *Lancet Oncol*. 2016; 17:1497–508.
8. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gumus M, Mazieres J, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy for squamous non-small cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018; 379:2040–51.
9. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019; 30:863–70.
10. Borghaei H, Langer CJ, Paz-Ares L, Rodriguez-Abreu D, Halmos B, Garassino MC, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone in patients with advanced non-small cell lung cancer without tumor Pd-L1 expression: a pooled analysis of 3 randomized controlled trials. *Cancer*. 2020; 126:4867–77.
11. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Perez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016; 387:1540–50.
12. Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2006; 355:2542–50.
13. Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, Szczesna A, Ciuleanu TE, Dediu M, et al. Nectin-4 inhibitor plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015; 16:763–74.



## Bronchų obstrukcijos išnykimas sergantiesiems astma: TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų *post hoc* analizė

NORMALISATION OF AIRFLOW LIMITATION IN ASTHMA: POST HOC ANALYSES OF TRIMARAN AND TRIGGER TRIALS

GUODA VAITUKAITIENĖ  
LSMU MA Pulmonologijos klinika

**Santrauka.** Sergantiesiems astma nuolatinė bronchų obstrukcija siejama su prastesne ligos kontrole, prastėjančia plaučių funkcija ir ligos paūmėjimais. Šiame tyrime atliekant *post hoc* analizę buvo vertintas ryšys tarp per atrankos vizitą registruotos tiriamųjų sumažėjusios kvėpavimo funkcijos – bronchų obstrukcijos, vertintos po dilatacijos salbutamoliu, ir bronchų obstrukcijos gydymo itin smulkių dalelių beklometazono dipropionato / formoterolio fumarato / glikopironio (BDP / FF / G) deriniu viename inhaliatoriuje arba BDP / FF deriniu 52 savaitių laikotarpiu. Taip pat buvo vertinta vidutinio sunkumo ir sunkių astmos paūmėjimų rizika. Rezultatai parodė, kad sergantiesiems astma bronchų obstrukcija susijusi su didesne paūmėjimų rizika. Gydymas triguba terapija itin smulkių dalelių BDP / FF / G deriniu buvo labiau linkęs normalizuoti plaučių funkciją ir turėjo tendenciją mažinti paūmėjimų dažnį, lyginant su gydymu BDP / FF deriniu, ypač toje pacientų grupėje, kuriems išnyko bronchų obstrukcija bent per vieną vizitą.

**Reikšminiai žodžiai:** astma, astmos paūmėjimas, bronchų obstrukcija, itin smulkios dalelės, triguba terapija.

**Summary.** In asthma, persistent airflow limitation (PAL) is associated with poorer control of the disease, lung function decline and exacerbations. In this study, the relationship between post-salbutamol PAL at screening, airflow limitation (AL) during 52 weeks of treatment with extra-fine beclometasone dipropionate / formoterol fumarate / glycopyrronium (BDP / FF / G) versus BDP / FF and the risk of moderate/severe asthma exacerbations was evaluated using post hoc analysis. It was found that AL in asthma was associated with an increased exacerbation incidence. Inhaled triple therapy with extra-fine BDP / FF / G was more likely to normalise airflow. It was associated with a trend of a lower exacerbation rate than BDP / FF, particularly in the subgroup of patients in whom treatment was associated with airflow normalisation.

**Keywords:** asthma, asthma exacerbation, airflow limitation, extra-fine particles, triple therapy.

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1028>

### IVADAS

Vienas iš astmos gydymo tikslų yra sumažinti nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos, kuri apibrėžiama kaip forsuito iškvėpimo tūrio per pirmąją sekundę (angl. *forced expiratory volume in 1 second*, FEV<sub>1</sub>) ir forsuitos gyvybinės plaučių talpos (angl. *forced vital capacity*, FVC) santykio nesugrįžimas į normą net po dilatacijos trumpojo veikimo  $\beta_2$  agonistu (TVBA), išsivystymą [1, 2]. Rizikos veiksniai nuolatinėi kvėpavimo takų obstrukcijai išsivystyti nežinomi. Nors vienas tyrimas parodė, kad didesnis paūmėjimų dažnis gali sąlygoti nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos išsivystymą, kitas tyrimas daro prielaidas, kad rizikos veiksniai, tokie kaip amžius, astmos ligos trukmė, vyriškoji lytis, bet ne paūmėjimų istorija, lemia tokią obstrukciją [3, 4]. Be to, yra duomenų, kad nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija galėtų būti atsparumo gliukokortikoidams žymuo [5].

Nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos buvimas

siejamas su uždegimu bronhuose ir kvėpavimo takų remodeliacija, prastesne astmos kontrole ir prastėjančia kvėpavimo funkcija [5–7]. Be to, astmos pacientai, kuriems yra nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija, dažniau turi ir smulkiųjų kvėpavimo takų disfunkciją [8]. Tačiau, ar nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija sergantiesiems astma yra negrįžtamas procesas, kaip kad sergantiesiems lėtine obstrukcine plaučių liga, ar galimai grįžtamas, niekada nebuvo išsamiai tyrinėta.

Šiame straipsnyje aptariamai du klinikiniai tyrimai: TRIMARAN – trigubos terapijos sergantiesiems nekontroliuojama astma ir gydomiems vidutinėmis įkvėpiamųjų gliukokortikoidų (IGK) dozėmis ir ilgo veikimo  $\beta_2$  agonistu (IVBA) tyrimas (angl. *Triple in Asthma With Uncontrolled Patients on Medium Strength of ICS + LABA study*) ir TRIGGER – trigubos didelių IGK dozių terapijos sergantiesiems astma, lyginant su gydymu didelių dozių IGK / IVBA ir tiotropiu, tyrimas (angl. *Triple in Asthma High Strength Versus ICS/LABA*

*HS and Tiotropium study*). TRIMARAN ir TRIGGER – šie du 52 savaičių trukmės klinikiniai tyrimai tyrė sergančiuosius nekontroliuojama astma, skiriant gydymą IVBA kartu su vidutine (TRIMARAN) arba didele IGK doze (TRIGGER tyrimas), o vertinant plaučių funkciją priešdilatacinis FEV<sub>1</sub> turėjo būti < 80 proc. būtinojo dydžio (b. d.), bet nebuvo jokių apribojimų podilataciniam FEV<sub>1</sub> arba FEV<sub>1</sub>/FVC santykiui. Kiekvienas iš šių tyrimų įtraukė daugiau nei po 100 pacientų, o tai leido *post hoc* analizės metu įvertinti ryšį tarp podilatacinės išliekančiosios bronchų obstrukcijos per atrankos vizitą ir astmos paūmėjimų dažnio vėlesnių 52 savaičių laikotarpiu. Be to, abiejuose tyrimuose pacientai buvo priskirti arba gydomų triguba terapija beklometazono dipropionato / formoterolio fumarato / glikopironio (BDP / FF / G) itin smulkių dalelių inhaliatoriumi arba itin smulkių dalelių IGK / IVBA deriniu, konkrečiai – BDP / FF deriniu, grupėms. Apskritai abiejuose šiuose tyrimuose ilgojo veikimo muskarino antagonistas (IVMA) pridėjimas pagerino plaučių funkciją ir sumažino astmos paūmėjimų riziką. BDP / FF / G poveikis vidutinio sunkumo ir sunkiems astmos paūmėjimams buvo didesnis TRIGGER tyrime.

Taigi, šiame straipsnyje aptariamos publikacijos autoriai nutarė panaudoti TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų duomenis, siekdami geriau išsiaiškinti ryšį tarp bronchų obstrukcijos išnykimo (atsirandančios gydymo trijų vaistų deriniu arba IGK / IVBA) ir paūmėjimų rizikos pacientų grupėje, kuriems nustatyta nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija po TVBA salbutamolio skyrimo per atrankos vizitą.

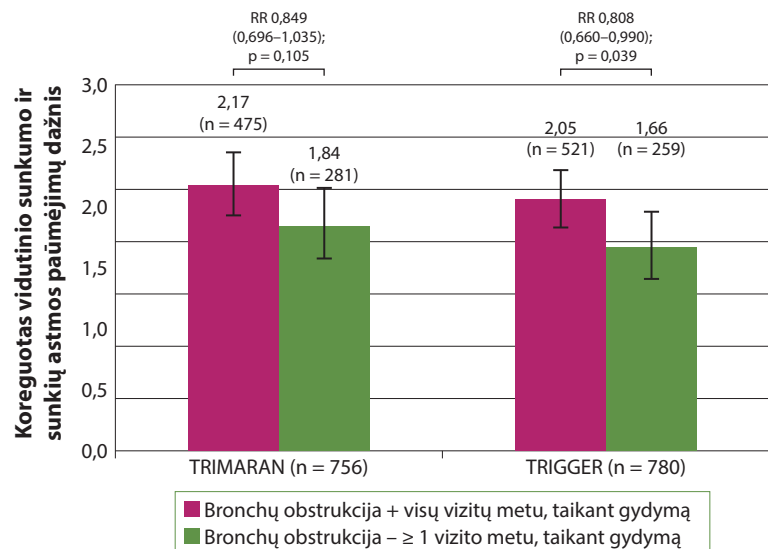
## METODIKA

TRIMARAN ir TRIGGER – tai du atsitiktinių imčių, paralelinių grupių, dvigubai akli, aktyviai kontroliuoti trečios fazės klinikiniai tyrimai. Pagrindinis skirtumas tarp jų yra IGK dozė, kurią pacientai vartojo iki tyrimo ir tyrimo laikotarpiu. TRIMARAN tyrime pacientai vartojo vidutines, o TRIGGER – dideles IGK dozes. Išsami šių tyrimų metodika, įtraukimo ir neįtraukimo kriterijai ir išsamūs rezultatai buvo pristatyti *Lancet* žurnale 2019 m. [9]. Be to, K. Biekšienė svarbiausius šių tyrimų aspektus jau yra aptarusi šiame žurnale [10].

Ši *post hoc* analizė koncentravosi į vidutinio sunkumo ir sunkių ligos paūmėjimų dažnį abiejuose tyrimuose. Sunkių paūmėjimų laikytas sergančiojo astma būklės pablogėjimas, reikalavęs bent trijų dienų gydymo sisteminiais gliukokortikoidais; vidutinio sunkumo paūmėjimu laikyta būklė, kai ligos paūmėjimą koregavosi

pats pacientas pagal Europos respiratologų draugijos (angl. *European Respiratory Society*, ERS) ir Amerikos krūtinės draugijos (angl. *American Thoracic Society*, ATS) bendrąjį apibrėžimą (t. y. vienas arba daugiau iš: naktiniai prabudimai dėl astmos arba padažnęję dienos simptomai, padidėjęs TVBA poreikis, FEV<sub>1</sub> sumažėjimas arba vizitas pas gydytoją dėl astmos simptomų, per kurį nebuvo skirti sisteminiai gliukokortikoidai).

Analizei naudoti pacientų FEV<sub>1</sub>/FVC santykio duomenys, gauti po 400 µg salbutamolio per atrankos vizitą, kurie atspindėjo didžiausią bronchodilatacinį poveikį, ir FEV<sub>1</sub>/FVC santykio duomenys, gauti praėjus 3 val. po tyrimo vaisto vartojimo (atspindintys didžiausią bronchodilatacinį poveikį naudojant BDP / FF / G arba BDP / FF vietoj salbutamolio) bent per vieną iš 52 savaičių tyrimo vizitų. Pacientai buvo suskirstyti į grupes pagal nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos buvimo kriterijų per atrankos vizitą ir gydymo laikotarpiu. Nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija laikyta, kai po salbutamolio skyrimo praėjus 10–15 min. FEV<sub>1</sub>/FVC buvo < 0,7 atrankos vizito metu. Gydant bronchų obstrukcija laikyta, jei tiriamųjų FEV<sub>1</sub>/FVC buvo < 0,7 3 val. po vaisto skyrimo per visus vizitus, išskyrus atrankos vizitą. Bronchų obstrukcija „+“ laikyta, kai visi po atrankos vizito registruoti 3 val. po vaisto skyrimo FEV<sub>1</sub>/FVC rezultatai buvo < 0,7, o bronchų obstrukcija „–“, bronchų obstrukcijos išnykimas, laikyta, jei bent



**1 pav. Koreguotas vidutinio sunkumo ir sunkių astmos paūmėjimų dažnis pacientų pogrupiuose, kuriems per atrankos vizitą buvo nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija, lyginant su gydymą gaunančių pacientų 3 val. po vaisto skyrimo kvėpavimo funkcija**

Duomenys grafike pateikti kaip koreguotas paūmėjimų dažnis ir 95 proc. pasikliautinasis intervalas, lyginant pacientus be bronchų obstrukcijos ir su bronchų obstrukcija gydymo laikotarpiu.

Bronchų obstrukcija „+“ laikyta, kai visi po atrankos vizito registruoti 3 val. po vaisto skyrimo FEV<sub>1</sub>/FVC rezultatai buvo < 0,7; bronchų obstrukcija „–“, bronchų obstrukcijos išnykimas, laikyta, kai bent vienas po atrankos vizito registruotas 3 val. po vaisto skyrimo FEV<sub>1</sub>/FVC rezultatas buvo ≥ 0,7. Nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija laikyta, kai po salbutamolio FEV<sub>1</sub>/FVC < 0,7 atrankos vizito metu.

RR – normos santykis (angl. *rate ratio*).

# Farmakoterapija

**1 lentelė. Pradinės TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų pacientų, sugrupuotų pagal nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos buvimo kriterijų per atrankos vizitą, charakteristikos**

	TRIMARAN		TRIGGER	
	Su nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija atrankos vizito metu (n = 756)	Be nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos atrankos vizito metu (n = 392)	Su nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija atrankos vizito metu (n = 780)	Be nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos atrankos vizito metu (n = 360)
Lytis, vyr., n (proc.)	333 (44,0)	109 (27,8)	351 (45,0)	104 (28,9)
Amžius, metais	54,0 (11,69)	49,8 (12,93)	55,2 (11,46)	50,2 (12,38)
Amžiaus grupės, n (proc.)				
< 65 metų	607 (80,3)	337 (86,0)	602 (77,2)	318 (88,3)
> 65 metų	149 (19,7)	55 (14,0)	178 (22,8)	42 (11,7)
KMI, kg/m <sup>2</sup>	27,8 (4,60)	28,3 (5,52)	28,4 (5,46)	28,7 (5,58)
KMI grupė, kg/m <sup>2</sup> , n (proc.)				
< 25	226 (29,9)	118 (30,1)	217 (27,8)	95 (26,4)
25–< 30	325 (43,0)	136 (34,7)	295 (37,8)	127 (35,3)
≥ 30	205 (27,1)	138 (35,2)	268 (34,4)	138 (38,3)
Rūkymas				
Buvę rūkoriai, n (proc.)	127 (16,8)	41 (10,5)	126 (16,2)	37 (10,3)
Nerūkantys, n (proc.)	629 (83,2)	351 (89,5)	654 (83,8)	323 (89,7)
ACQ-5 per atranką	2,4 (0,72)	2,4 (0,69)	2,6 (0,73)	2,5 (0,63)
ACQ-7 per atranką	2,6 (0,61)	2,5 (0,56)	2,9 (0,63)	2,6 (0,54)
FEV <sub>1</sub> prieš salbutamolį, proc. b. d.	52,4 (12,07)	61,2 (9,94)	48,0 (12,98)	60,0 (10,61)
FEV <sub>1</sub> /FVC prieš salbutamolį	0,55 (0,09)	0,70 (0,09)	0,53 (0,10)	0,71 (0,09)
FEV <sub>1</sub> /FVC po salbutamolio	0,59 (0,08)	0,77 (0,05)	0,57 (0,10)	0,76 (0,05)
Astmos paūmėjimai per paskutiniuosius metus, n (proc.)				
1	629 (83,2)	316 (80,6)	607 (77,8)	282 (78,3)
> 1	127 (16,8)	76 (19,4)	173 (22,2)	78 (21,7)

Duomenys pateikiami kaip skaičius (n) procentais (proc.) arba vidurkis ir standartinis nuokrypis.

ACQ – Astmos kontrolės klausimynas (angl. *Asthma Control Questionnaire*); b. d. – būtinąjo dydžio; KMI – kūno masės indeksas; FEV<sub>1</sub> – forsuoto iškvėpimo tūris per 1 sek. (angl. *forced expiratory volume in 1 second*); FVC – forsuota gyvybinė talpa (angl. *forced vital capacity*).

vienas po atrankos vizito registruotas 3 val. po vaisto skyrimo FEV<sub>1</sub>/FVC rezultatas buvo ≥ 0,7.

Astmos paūmėjimams vertinti naudotas neigiamas binominis modelis, apimantis gydymo laikotarpį ir paūmėjimus praėjusiais metais prieš tyrimą (t. y. 1 arba > 1). Skirstant į grupes pagal tyrimo laikotarpiu gautą gydymą, naudotas logistinės regresijos modelis.

## REZULTATAI

Ši analizė apima 1148 TRIMARAN ir 1140 TRIGGER tyrimų pacientų duomenis, kurie dvigubai aklu būdu buvo suskirstyti į BDP / FF / G ir BDP / FF grupes.

Daugumai pacientų, kuriems nustatyta nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija po salbutamolio atrankos vizito metu, per visus tyrimo vizitus taip pat aptikta bronchų obstrukcija (TRIMARAN – 62,8 proc., TRIGGER – 66,8 proc. tiriamųjų).

Pirmoje lentelėje pateikiamos pradinės TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų pacientų, sugrupuotų pagal nuo-

latinės kvėpavimo takų obstrukcijos buvimo kriterijų per atrankos vizitą, charakteristikos. Visose grupėse daugiau nei 80 proc. pacientų buvo niekada nerūkę.

Žymiai didesnė dalis pacientų, kuriems bent per vieną gydymo vizitą praėjus 3 val. po gydomojo vaisto vartojimo išnyko bronchų obstrukcija, buvo gydomi BDP / FF / G deriniu, lyginant su gydomais BDP / FF (TRIMARAN 44,1 proc., palyginti su 33,1 proc. (p = 0,003); TRIGGER 40,1 proc., palyginti su 26,0 proc. (p < 0,001)).

Pirmame paveiksle pateikiamas koreguotas vidutinio sunkumo ir sunkių astmos paūmėjimų dažnis pacientų pogrupiuose, kuriems atrankos vizito metu buvo nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija, lyginant su gydymą gaunančių pacientų 3 val. po vaisto skyrimo kvėpavimo funkcija. Pacientams, kuriems po salbutamolio nustatyta nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija išnyko bent vieno vizito metu, paūmėjimų dažnis buvo mažesnis – 15 proc. (p = 0,105) TRIMARAN ir

19 proc. ( $p = 0,039$ ) TRIGGER tyrimuose, lyginant su tais, kuriems nustatyta bronchų obstrukcija per visus vizitus.

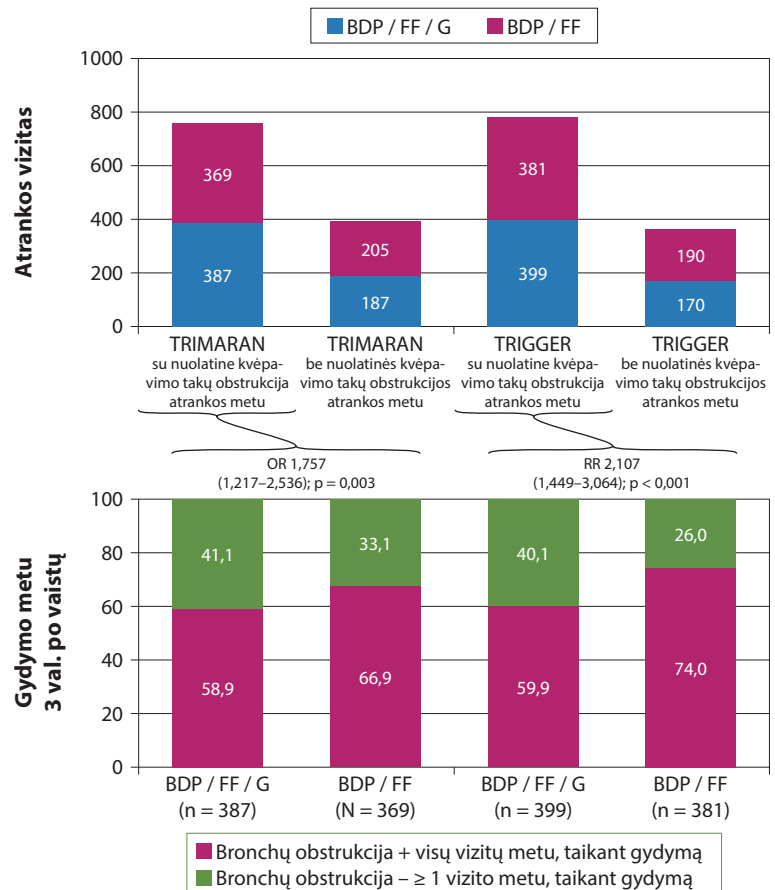
Antrame paveiksle pateikiamas ryšys tarp tyrimo laikotarpiu skirto gydymo ir bronchų obstrukcijos išnykimo. Skaičiuotas šansų santykis daliai pacientų su išnykusia bronchų obstrukcija –  $\geq 1$  vizitą, taikant gydymą, lyginant gydytų BDP / FF / G ir BDP / FF grupes. Nustatyta retesnių paūmėjimų tendencija pacientams, gydytiems BDP / FF / G deriniu, palyginus su BDP / FF deriniu, ypač grupėje, kurioje bronchų obstrukcija išnyko.

## APTARIMAS

TRIMARAN ir TRIGGER yra pirmieji tyrimai, kuriais įvertintas itin smulkių dalelių trigubos terapijos viename inhaliatoriuje veiksmingumas ir saugumas gydant sergančiuosius astma. Plaučių funkcijos pagerėjimas ( $FEV_1$ , vertinant prieš vaisto dozę) kaip pirminis tyrimo tikslas buvo pasiektas abiejuose tyrimuose. Nežymiai didesnis plaučių funkcijos pagerėjimas nustatytas TRIGGER tyrime. Kitas pirminis tyrimo tikslas – vidutinio sunkumo ir sunkių astmos paūmėjimų dažnio sumažėjimas pasiektas tik TRIMARAN tyrime. Šiame tyrime reikšmingai (15 proc.) sumažėjo paūmėjimų dažnis BDP / FF / G gydytų pacientų grupėje, lyginant su BDP / FF grupe. TRIGGER tyrime astmos paūmėjimų dažnis sumažėjo 12 proc., tačiau pokytis nepasiekė statistinio reikšmingumo lygmens.

Apskritai šių dviejų tyrimų analizė parodė, kad papildomas IVMA pridėjimas prie gydymo IGKS / IVBA pagerino kvėpavimo funkciją ir suretino paūmėjimus [9]. Ši *post hoc* analizė papildomai suteikia žinių, kad iš dalies paūmėjimų suretėjimas yra dėl išnykusios bronchų obstrukcijos per vieną arba kelis vizitus, kai pacientai buvo gydomi BDP / FF / G deriniu, palyginus su BDP / FF.

TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų rezultatai rodo, kad maždaug dviem trečdaliams pacientų buvo nustatyta kvėpavimo takų obstrukcija po salbutamolio atrankos vizito metu, nors jie jau buvo gydomi IGKS / IVBA deriniu. Astma sergančiuosius, turinčius tokią sumažėjusią kvėpavimo funkciją, jau galima gydyti sisteminiais gliukokortikoidais arba biologiniais vaistais. Šio tyrimo autoriams kelia susirūpinimą minėtų vaistų kaina ir nepageidaujami poveikiai, o analizė rodo, kad daliai pacientų tikrai būtų naudingas gydymas trijų vaistų deriniu.



**2 pav. Ryšys tarp per tyrimą skirto gydymo ir bronchų obstrukcijos išnykimo**

Per atranką: nuolatinė kvėpavimo takų obstrukcija laikyta, kai po salbutamolio  $FEV_1/FVC < 0,7$ ; be nuolatinės kvėpavimo takų obstrukcijos laikyta, kai po salbutamolio  $FEV_1/FVC \geq 0,7$ . Gydymo laikotarpiu: bronchų obstrukcija „+“ laikyta, kai visi po atrankos vizito registruoti 3 val. po vaisto skyrimo  $FEV_1/FVC$  rezultatai buvo  $< 0,7$ ; bronchų obstrukcija „-“, bronchų obstrukcijos išnykimas, laikyta, kai bent vienas po atrankos vizito registruotas 3 val. po vaisto skyrimo  $FEV_1/FVC$  rezultatas buvo  $\geq 0,7$ .

BDP – beklometazono dipropionatas, FF – formoterolio fumaratas, G – glikopironis; OR (angl. *odds ratio*) – šansų santykis, paskaičiuotas daliai pacientų su išnykusia bronchų obstrukcija –  $\geq 1$  vizito metu, taikant gydymą, palyginant gydytų BDP / FF / G ir BDP / FF grupes.

Atliekant statistinę *post hoc* analizę teko rinktis metodus, kurie kiek galima tiksliau pagrįstų keliamas hipotezes, tačiau kai kur pritrūko statistinės galios. Šios analizės autoriai neįtraukė šių dviejų tyrimų duomenų į vieną grupę, visą laiką lygino TRIMARAN ir TRIGGER tyrimų rezultatus tarpusavyje, kas savaime suteikia reikšmingos informacijos.

Sunku lyginti šio tyrimo duomenis su kitais klinikiniais astmos tyrimais, ypač dėl bronchų obstrukcijos ir ligos paūmėjimų apibrėžimų nevienodumo. Tačiau ši analizė praplečia prieš tai atliktos šių dviejų tyrimų analizės duomenis, kurioje kvėpavimo takų obstrukcija (po salbutamolio  $FEV_1/FVC < 0,7$ ) siejosi su dažnesniais astmos paūmėjimais nei tada, kai bronchų obstrukcija buvo grįžtama (1,41 ir 0,53,  $p < 0,01$ ) [11]. Panašius rezultatus pateikė ir B. M. Smith su bendraautoriais publikuotame tyrime, dar vadinamame „Sunkios astmos tyrimu“, kur per atranką pacientai,

# Farmakoterapija

kuriems registruota kvėpavimo takų obstrukcija, turėjo dažnesnius paūmėjimus nei tie, kuriems bronchų obstrukcija išnyko po salbutamolio skyrimo [3].

Pagrindinis šio tyrimo trūkumas yra tai, kad tai jau atlikto tyrimo analizė – *post hoc* analizė, o ne suplanuotas tyrimas, su iš anksto numatytais straipsnyje aprašytais tikslais. Tokius rezultatus visada rekomenduojama pakartoti per prospektyvinį tyrimą.

Planuojant šį tyrimą buvo norėta nagrinėti sunkius astmos paūmėjimus ir jų įtaką plaučių funkcijai, bet per šiuos tyrimus dokumentuota per mažai sunkių astmos paūmėjimų ir tų atvejų neužteko statistinei analizei, todėl analizuoti ir vidutinio sunkumo astmos paūmėjimai, nors jų diagnostika nėra tokia tiksliai jau vien atsižvelgiant į apibrėžimą.

## APIBENDRINIMAS

Sergantiesiems astma, gydytiems vidutinėmis arba didelėmis IGK dozėmis ir IVBA arba IGK, IVBA ir IVMA deriniu, bronchų obstrukcija buvo susijusi su bendra tendencija dažniau patirti vidutinio sunkumo ir sunkius ligos paūmėjimus. Labiau tikėtina, kad gydymas itin smulkių dalelių BDP / FF / G deriniu viename inhaliatoriuje, normalizavo plaučių funkciją ir parodė tendenciją sietis su retesniais ligos paūmėjimais nei gydymas BDP / FF, o patys akivaizdžiausi rezultatai buvo pacientų pogrupyje, kuriems gydymas buvo susijęs su plaučių funkcijos atsikūrimu.

*Parengta pagal straipsnį Papi A, Singh D, Virchow JC, Canonica GW, Vele A, Georges G. Normalisation of airflow limitation in asthma: Post-hoc analyses of TRIMARAN and TRIGGER. Clin Transl Allergy. 2022; 12(4):e12145.*

## LITERATŪRA

1. Global Initiative For Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. 2021. Accessed December 21, 2021. Available at: <https://ginasthma.org/reports>.
2. Konstantellou E, Papaioannou AI, Loukides S, Patentalakis G, Papaporfyriou A, Hillas G, et al. Persistent airflow obstruction in patients with asthma: characteristics of a distinct clinical phenotype. *Respir Med.* 2015; 109:1404–9.
3. Smith BM, Zhao N, Olivenstein R, Lemiere C, Hamid Q, Martin JG. Asthma and fixed airflow obstruction: long-term trajectories suggest distinct endotypes. *Clin Exp Allergy.* 2021; 51:39–48.
4. Bennett GH, Carpenter L, Hao W, Song P, Steinberg J, Baptist AP. Risk factors and clinical outcomes associated with fixed airflow obstruction in older adults with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018; 120:164–8.
5. Tonga KO, Chapman DG, Farah CS, Oliver BG, Zimmermann SC, Milne S, et al. Reduced lung elastic recoil and fixed airflow obstruction in asthma. *Respirology.* 2020; 25:613–9.
6. Tashkin DP, Chipps BE, Trudo F, Zangrilli JG. Fixed airflow obstruction in asthma: a descriptive study of patient profiles and effect on treatment responses. *J Asthma.* 2014; 51:603–9.
7. Contoli M, Baraldo S, Marku B, Casolari P, Marwick JA, Turato G, et al. Fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease: 5-year follow-up. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125:830–7.
8. Pornsuriyasak P, Khiawwan S, Rattanasiri S, Unwanatham N, Petnak T. Prevalence of small airways dysfunction in asthma with- and without-fixed airflow obstruction and chronic obstructive pulmonary disease. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2021; 39(4):296–303.
9. Virchow JC, Kuna P, Paggiaro P, Papi A, Singh D, Corre S, et al. Single inhaler extrafine triple therapy in uncontrolled asthma (TRIMARAN and TRIGGER): two double-blind, parallel-group, randomised, controlled phase 3 trials. *Lancet.* 2019; 394:1737–49.
10. Biekšienė K. Sergančiųjų nekontroliuojama astma gydymas itin smulkių dalelių trijų vaistų deriniu viename inhaliatoriuje: TRIMARAN ir TRIGGER tyrimai. *PIA.* 2021; 192:176–182.
11. Contoli M, Baraldo S, Marku B, Casolari P, Marwick JA, Turato G, et al. Fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease: 5-year follow-up. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125:830–7.

# Informacija

## Padėka žurnalo „Pulmonologija ir alergologija“ skilties „Moksliniai darbai ir apžvalgos“ 2022 metų recenzentams

Nuoširdžiai dėkojame 2022 m. žurnalo „Pulmonologija ir alergologija“ straipsnių recenzentams:

Doc. Vaidai Andrulevičiūtei, LSMU MA MF Biochemijos katedra

Dr. Ievai Bajoriūnienei, LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Dr. Viltei Marijai Gintauskienei, Imunologijos ir alergologijos klinika

Dr. Virginijai Kalinauskaitei-Žukauskei, LSMU MA Pulmonologijos klinika

Doc. Palmirai Leišytei, LSMU MA Vidaus ligų klinika

Dr. Kotrynai Linauskienei, VU MF Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika

Prof. Kęstučiui Malakauskui, LSMU MA Pulmonologijos klinika

Prof. Skaidriui Miliauskui, LSMU MA Pulmonologijos klinika

Evelinai Pajėdienei, LSMU MA Neurologijos klinika

Dr. Evelinai Pukenytei, LSMU MA Infekcinių ligų klinika

Doc. Jūratei Staikūnienei-Kozonis, LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Doc. Virginijai Šileikienei, VU MF Krūtinės ligų, imunologijos ir alergologijos klinika

Prof. Virgilijui Uložai, LSMU MA Ausų, nosies ir gerklės ligų klinika

Dr. Paulinai Vaitkienei, LSMU Molekulinės neurobiologijos laboratorija

**Vyr. redaktorius prof. K. Malakauskas**

# 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 ir 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. Rekomendacijoms 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 rekomendacijos 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 įspėja 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. Puslapiai 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.
    - Rekomendacijos.
    - 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 arba medžiagos skaičius ir apibūdinimas, aprašomas gydymas arba intervencijos,

naudoti statistinės 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 pavidalu.
- *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* (geriau išsamesni reikalavimai pateikiami 2.11 punkte).

**2.5. Reikalavimai mokslinei apžvalgai (recenzuojamai).** Moksliniai straipsniai turi būti parašyti laikantis mokslinio kalbos stiliaus reikalavimų ir, pageidautina, atitikti mokslinio straipsnio struktūrinę 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 paveikslo 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, 4<sup>th</sup> 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. 3<sup>rd</sup> Edn. Edinburgh/Philadelphia, Elsevier Science, 2002; pp. 64–81.

### • Knyga

Vigneswaran W, Garrity E, Odell J, eds. Lung transplantation: principles and practice. 1<sup>st</sup> 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](http://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 and 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.

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, 4<sup>th</sup> 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*. 3<sup>rd</sup> Edn. Edinburgh/Philadelphia, Elsevier Science, 2002; pp. 64–81.
- **A book:**  
Vigneswaran W, Garrity E, Odell J, eds. *Lung transplantation: principles and practice*. 1<sup>st</sup> 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](http://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>