



75

LIETUVOS MOKSLŲ AKADEMIJOS
BIOLOGIJOS, MEDICINOS
IR GEOMOKSLŲ SKYRIUS

2016 m. jaunųjų
mokslininkų konferencijos

BIOATEITIS:

gamtos ir gyvybės mokslų
perspektyvos

pranešimų santraukos*

RĖMĖJAS

ThermoFisher
SCIENTIFIC

* Pranešimų santraukų kalba netaisyta



BIOLOGIJOS, EKOLOGIJOS IR GEOMOKSLŲ SEKCIJA

Invazinių šliužų hibridų nustatymas morfologiniais metodais

Mantas Adomaitis

Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas

Lietuvoje, kaip ir visoje Europoje, sparčiai plinta invaziniai šliužai – luzitaniniai arionai (*Arion lusitanicus*). Jie kelia grėsmę ne tik ūkininkų augalams (nes tai labai ėdrus šliužas), bet ir Lietuvoje saugomiems šliužams – juodiesiems arionams (*A. ater*). Mokslininkai iškėlė hipotezę, kad vietinių šliužų rūšių išstūmimo priežastis gali būti tarprūšinis kryžminimasis, kuris palankesnis vislesniam luzitaniniam arionui. Manoma, kad šliužų hibridus galima identifikuoti analizuojant lytinės sistemos organų morfologiją. Tačiau mūsų tyrimai atskleidė, kad tokie morfologiniai požymiai yra nepatikimi.

2015–2016 buvo atlikta Lietuvoje ir Danijoje surinktų luzitaninių arionų lytinės sistemos organų morfologinė ir morfometrė analizė. Iširta 76 individai iš mišrių su kitomis arionų rūšimis populiacijų ir 198 individai iš populiacijų, kur kitos didžiųjų arionų rūšys negyvena. Paaiškėjo, kad reikšmingai nesiskiria nei lytinių organų forma, nei jų morfometriškai išmatavimai. Tuo tarpu skirtumai, kuriuos pastebėjo kiti mokslininkai, reikšmingai priklausė tik nuo šliužų kūno masės, kuri iš dalies atskleidžia skirtingą šliužų amžių ir, tikėtina, susiję su poravimosi stadija (ar individas jau poravosi, ar ne).

Šie rezultatai prieštarauja ankstesniems literatūros duomenims, kuriuose iš kelių pavyzdžių buvo padaryta išvada, kad hibridai pasižymi didesne lytinės sistemos organų struktūrine įvairove. Norint surasti patikimus hibridų skiriamuosius požymius, būtina atlikti skirtingų šliužų rūšių kryžminimo eksperimentus ir sulaukus jų palikuonių, juos iširti morfologiškai ir genetiškai.

Interocepcijos tyrimas: psichologinių ir fiziologinių rodiklių sugretinimas

Aida Grabauskaitė

Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakulteto Neurobiologijos ir biofizikos katedra

Žinios apie interocepriją, vidinės kūno būklės jutimą, pritaikomos gydant lėtinį skausmą, priklausomybes, siekiant pagerinti sprendimų priėmimą. Interocepcija – daugialypis konstruktas, tiriamas įvairiais būdais. Visgi iki šiol trūko tyrimo, apimančio ir fiziologines, ir elgsenines, ir savistabos priemones, įskaitant interocepčinio įsisaugoninimo įvairius dėmenis. Šio darbo tikslas – tarpusavyje palyginti interocepčinio rodiklius, tiriant juos savistabos, elgsenine ir fiziologine įvertinimo priemonėmis.

Savistabos metodu pasirinktas *Daugiamatis interocepčinio įvertinimo klausimynas* (MAIA), elgseniniu – širdies dūžių skaičiavimo užduotis (ŠDSU), fiziologiniu – širdies dūžių sukeltieji potencialai (ŠDSP). Dalyvavo 40 tiriamųjų (50 % moterų), vidutinis amžius 24 m.

MAIA „įsiklausymo į kūną“ skalė vidutiniškai stipriai neigiamai koreliavo su ŠDSU tikslumu abiejų lyčių imtyje ($r = -0,621$, $p < 0,001$). ŠDSU silpnai teigiamai koreliavo su ŠDSP amplitudėmis

abiejų lyčių imtyje ($r = 0,498$, $p = 0,004$). ŠDSP koreliavo su šiomis MAIA skalėmis: „Pagavos“ (stipriai: neigiamai – vyrų imtyje, $r = -0,702$; teigiamai – moterų $r = 0,791$), „Nesijaudinimo“ (teigiamai: vidutiniškai – abiejų lyčių imtyje, $r = 0,550$; stipriai – moterų imtyje, $r = 0,832$) ir „Pasitikėjimo“ (teigiamai: vidutiniškai – abiejų lyčių imtyje, $r = 0,501$, stipriai – moterų imtyje, $r = 0,714$), $p < 0,005$. Ryškiausios sąsajos rastos tarp fiziologinių ir savistabos rodiklių. Kai kurie interocepčinio rodikliai ir ryšiai tarp jų skiriasi priklausomai nuo lyties.

Atsparumo chemoterapijai vystymosi vėžinėse ląstelėse tyrimai

Raimonda Kubiliūtė, Kristina Daniūnaitė, Sonata Jarmalaitė

Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas

Nacionalinis vėžio institutas

Daugiavaistis navikinių ląstelių atsparumas yra pagrindinė neefektyvios daugelio vėžio tipų chemoterapijos priežastis. Padidėjęs ABC transporterių aktyvumas ir epitelinė mezenchiminė tranzicija (EMT) prisideda prie navikinių ląstelių rezistentiškumo. Pagrindinis tyrimo tikslas – įvertinti genų raiškos pokyčius, vykstančius storžarnės CX-1 ir krūties MX-1 vėžinių ląstelių linijų chemorezistentiškumo vystymosi metu.

Tyrimo naudotos įvairioms doksorubicino (DOX) koncentracijoms atsparios CX-1/D ir MX-1/D ląstelės. Taip pat MX-1/T sublinija, kuriose atsparumas DOX indukuotas dirbtinai, panaudojus ABC transporterių substratą TPP, bei MX-1/TD ląstelės, papildomai veiktos DOX. Visuminė genų raiškos analizė atlikta genų raiškos mikrogardėmis, o pavienių genų raiška tirta atvirkštinės transkripcijos kiekybine PGR. *ABCB1* metilinimo būseną analizuota pirosekvenuojant.

Visuminė genų raiškos analizė atskleidė daugelio su EMT procesu susijusių genų raiškos pokyčius visose chemorezistentiškų ląstelių sublinijose. Taip pat buvo stebimas patikimas ir pagrindinių EMT žymenų *CDH1*, *CDH2*, *SNAI1*, *ZEB1*, ląstelių kamieniškumo genų *NANOG*, *SOX2* bei nedidelis *ABCC1* raiškos padidėjimas. MX-1/T ir MX-1/TD ląstelės nuo kitų labiausiai skyrėsi ypač stipriai (≥ 4 mln. kartų) išaugusia *ABCB1* raiška dėl geno amplifikacijos ir promotoriaus demetilinimo, kas galimai indukavo EMT procesą šiose ląstelėse.

Gauti rezultatai parodo EMT proceso svarbą, vystantis navikinių ląstelių chemorezistentiškumui. Stipriai išaugusi *ABCB1* raiška taip pat prisideda prie atsparumo išsivystymo ne tik per vaistų pašalinimą, bet galimai ir per EMT proceso indukavimą.

Edafinių veiksnių įtaka keturbriaunio čiobrelio (*Thymus pulegioides*) eterinio aliejaus kiekybinei ir kokybinei sudėčiai

Vaida Vaičiulytė, K. Ložienė, R. Taraškevičius, R. Butkienė

Gamtos tyrimų centro Botanikos institutas

Keturbriaunis čiobrelis (*Thymus pulegioides* L.) vaistinis, aromatinis, eterinius aliejus kaupiantis augalas. Jo eterinis aliejus pasižymi antimikrobinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis. Šiai rūšiai, kaip ir kitoms *Thymus* genties rūšims būdingas cheminis polimorfizmas. Lietuvoje aptinkami šeši *T. pulegioides* chemotipai: karvakrolio, timolio, timolio/karvakrolio, geraniolio, linalolio ir α -terpinilo acetato. Eterinio aliejaus kiekybinę ir kokybinę sudėtį lemia augalo genetinės savybės, tačiau nemažas vaidmuo tenka ir įvairiems aplinkos veiksniams. Šio tyrimo

tikslas – iširti edafinių veiksnių įtaką *T. pulegioides* eterinių aliejų kiekybinei ir kokybinei sudėčiai bei *T. pulegioides* chemotipų paplitimui.

Buvo tirtos 44-ios natūralios *T. pulegioides* augavietės Lietuvos pietinėje ir pietrytinėje dalyje. Eteriniai aliejai iš orasausės augalinės žaliavos išskirti hidrodistiliacijos būdu, jų cheminė sudėtis nustatyta naudojant dujų chromatografijos ir masių spektrometrijos metodą. Humuso ir judriojo fosforo kiekiai dirvožemyje nustatyti – fotoelektrokolorimetriniu, judriojo kalio fotometriniu metodu, pH įvertintas potenciometriniu metodu, o 14-os dirvožemio mikroelementų kiekiai nustatyti rentgeno fluorescensiniu metodu.

Buvo nustatyti statistiškai patikimi neigiami koreliaciniai ryšiai tarp aliuminio, mangano, vario bei geležies kiekių dirvožemyje ir *T. pulegioides* augaluose susikaupiančio eterinio aliejaus kiekybinės sudėties. Augavietėse su didesniu mangano kiekiu dirvožemyje buvo dažnesnis *T. pulegioides* geraniolio chemotipas, o su mažesniu – karvakrolio chemotipas. Nustatyta, kad didesnis judriojo fosforo kiekis dirvožemyje gali teigiamai įtakoti α -terpinilo acetato biosintezę ir jo kaupimąsi *T. pulegioides* α -terpinilo acetato chemotipo eteriniame aliejuje, o didesnėsios kiekis dirvožemyje – stimuluoti karvakrolio ir linalolio biosintezę ir kaupimąsi atitinkamų chemotipų eteriniuose aliejuose. Taip pat nustatytas neigiamas koreliacinis ryšys tarp silicio kiekio dirvožemyje ir linalolio kiekio *T. pulegioides* eteriniame aliejuje ($r = -0,32$, $p < 0,05$).

Aplinkos praturtinimo priemonių vaidmuo Juodosios jūros afalinų (*Tursiops truncatus ponticus*) elgsenoje uždaroje sistemoje

Rūta Žilienė

Klaipėdos universitetas

Šiuo metu Europoje jūriniai žinduoliai gyvena daugiau nei penkiasdešimtyje delfinariumų ir jūrų muziejų. Pastaraisiais metais gyvūnų gerbūvis reglamentuojamas gyvūnų laikymo sąlygų užtikrinimu ir rūšiai specifinėmis aplinkos praturtinimo priemonėmis (APP). Šiame tyrime stebint Juodosios jūros afalinų elgseną buvo įvertinta paprastų ir kompleksinių APP reikšmė bei žmogaus ir gyvūno bendravimo svarba uždaroje ekosistemoje gyvenančioms afalinoms. Gyvūnų elgsenos tyrimui naudojant individo stebėjimo metodą buvo išskirti 65 skirtingi elgsenos elementai. Pradėjus naudoti lytėjimą stiprinančias APP buvo užregistruota 20 žaidybinės elgsenos elementų. Žaidybinė elgsena lemia didesnį gyvūno veiksmų plastiškumą ir įvairovę, vysto ir palaiko suvokimo įgūdžius, gerina vystymąsi bei naujos informacijos apdorojimą. Žaidybinės elgsenos elementų skaičius priklausė nuo socializacijos tarp individų laipsnio, kuris buvo matuotas asociacijos indeksu ($r = 0,7$, $p < 0,01$). Nustatyta, jog APP naudojimas turi reikšmingą įtaką ne tik fizinei, bet ir psichologinei afalinų būsenai. Prieš pasirodymą taikant APP, pasirodymų metu afalinos tapo mažiau nervingos ($r = 0,51$, $p < 0,05$) ir labiau dėmesingos ($r = 0,78$, $p < 0,05$). Vizualius elgsenos stebėjimus siekiama papildyti prie gyvūnų tvirtinamais sensoriais, kurių pagalba galima sekti nuolatinius biologinių ir fizinių parametrų pokyčius. Aukšto intelekto gyvūnų elgsenos stebėjimams kelia papildomus reikalavimus sensorių tvirtinimui, apsaugai ir naudojimui, tačiau tokios naujos technologijos leis iš esmės pakeisti APP svarbos vertinimą jūrinių žinduolių gerovei.

Baltijos artezinio baseino aktyvios apykaitos zonos ^{18}O izotopų santykio ir chloridų pasiskirstymo seka

Modestas Bujanauskas

VU Chemijos ir geomokslų fakultetas

Aktyvios apykaitos zonos hidrogeocheminis–izotopinis rajonavimas atsižvelgus į $\delta^{18}\text{O}$ ir chloridų pokyčius su Baltijos arteziniame baseine (BAB) pritaikytas pirmą kartą. Atliktas rajonavimas leidžia pilniau įvertinti reljefo, mitybos–iškrovos sąlygų įtaka požeminio vandens hidrogeocheminės–izotopinės sudėties formavimuisi.

Darbe pateikiama sudaryta hidrogeocheminio–izotopinio rajonavimo metodika, kuria naudojant BAB pagal reljefą, mitybos–iškrovos sričių pasiskirstymo ypatumus buvo išskirti 8 rajonai. Nustatyta, kad požeminio vandens hidrogeocheminė–izotopinė sudėtis susidarė dėl šiuolaikinių ir praeityje vykusių maišymosi procesų tarp holoceno laikotarpio meteogeninio vandens, išlikusio vėlyvojo pleistoceno požeminio vandens ir išsikraunančių prepleistoceno laikotarpio giluminio požeminio vandens srautų.

Įvertinus aktyvios apykaitos zonos $\delta^{18}\text{O}$ ir chloridų sekų ypatumus pastebėta, kad gėliausias požeminis vanduo paplitęs takoskyroje, kuri orientuota nuo šiaurės Estijos Pandiverės aukštumos pietų kryptimi link Žemaičių ir Sūduvos aukštumų. Joje infiltruojantis šiuolaikiniai ir Pleistoceno meteogeninio vandens srautai praskiedė mūsų regiono teritorijoje, priešingomis kryptimis išsikraunančius giluminius požeminio vandens srautus iš Maskvos ir Baltijos įdaubų.

Atlikus $\delta^{18}\text{O}$ ir chloridų sekų lyginamąją analizę su gyliu pastebėta, kad pietinėje Baltijos teritorijos dalyje, Rytinėje Latvijoje bei Rytinėje Lietuvoje hidrogeologiškai aktyvių lūžių zonose vykstant giluminio požeminio vandens iškrovai Cl⁻ koncentracija su gyliu didėja, o izotopinė sudėtis sunkėja. Estijos monoklinoje, Žemaičių–Kuršo aukštumose dėl hidrogeologiniame pjūvyje išlikusio vėlyvajame pleistocene susiformavusio požeminio vandens, didėjant gyliui Cl⁻ koncentracija nežymiai didėja, o izotopinė sudėtis lengvėja.

Chronomarkerių Cs-137 IR Pb-210 taikymas vertinant sedimentacijos procesų spartą

Renata Mikalauskiene

Gamtos tyrimų centro Geologijos ir geografijos institutas

Šiame darbe buvo atlikti chronologiniai tyrimai Lietuvos ir Lenkijos ežeruose. Gamtinės ir dirbtinės kilmės radionuklidų savitieji aktyvumai ežerų dugno nuosėdų kolonėlėse nustatyti pritaikant beta ir gama spektrometrinius mėginių paruošimo ir matavimo metodus. Remiantis gamtinio radionuklido ^{210}Pb matavimo duomenimis bei panaudojant CRS (Constant Rate of Supply) ir CF:CS (Constant Flux – Constant Sedimentation) datavimo modelius, sudarytos chronologinės skalės apimančios 100–150 metų laikotarpį. Chronologinių skalių patikimumas įvertintas atsižvelgiant į ^{137}Cs vertikalųjį pasiskirstymą ežerų dugno kolonelių profiliuose. Ežerų nuosėdų kaupimosi greičio kaita įvertinta remiantis tyrimo metu gautais modeliavimo rezultatais.

Reikšminiai žodžiai: ežero dugno nuosėdos, ^{137}Cs , ^{210}Pb , chronologija, CRS, CF:CS, sedimentacijos greitis.

Pietryčių Lietuvos kvartero vandeningojo komplekso požeminio vandens tricio aktyvumo trendo formavimasis

Vytautas Samalavičius

VU Chemijos ir geomokslų fakultetas

XX a. antroje pusėje vykdytų termobranduolinių užtaisų bandymų metu į atmosferą pateko dideli kiekiai tricio, dėl ko išaugo ^3H koncentracija hidrosferoje. Šiuo metu tricio aktyvumas požeminiame vandenyje yra pasiekęs natūralias fonines reikšmes – antropogeninio ^3H signalas yra beveik išnykęs.

Atlikus tricio aktyvumo trendo analizę paaiškėjo, jog pietryčių Lietuvos grunto vandens ^3H aktyvumas ir jo pokyčiai atitinka kritulių vandenį. Spūdiniuose sluoksniuose tricio aktyvumas yra veikiamas maišymosi faktoriaus, kas atsispindi trendo polinkyje. Pagrindinė problema analizuojant tricio signalą ir datuojant vandenį yra pradinių koncentracijų verčių trūkumas. Šias vertes galima apskaičiuoti naudojantis esamo signalo pokyčiu laike, naudojantis gradientų metodu. Apskaičiuojant gradientą turi būti žinomos mažiausiai dvi ^3H aktyvumo vertės nustatytos viename taške, skirtingu laiku. Taipogi, apskaičiuotos gradiento vertės turi sutapti keliose paėmimo vietose tiriamame sluoksnyje. Šios sąlygos yra tenkinamos tik *ag III-II md-gr* vandeningame sluoksnyje, kuriame yra pasiekta pusiausvyra tarp maitinančio grunto ir sluoksnyje esančio vandens.

Tricio aktyvumo smailės analizė yra siūloma kaip modeliavimo rezultatų interpretavimo metodas. Vykstant nuolatiniam seno ir naujai patenkančio vandens maišymuisi, datavimas tampa sąlyginis ir atitinka sutartinį, suvidurkintą vandens amžių. Remiantis modeliuotu tricio aktyvumo kitimo grafiku parodoma, jog egzistuoja keli variantai kuriais galima nusakyti vandens amžių, o tai suteikia išsamesnę ir detalesnę hidrogeologinę informaciją.

Bendroji Saulės spinduliuotė Lietuvos teritorijoje

Grinvydas Špelveris

Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas

Pagrindinė spinduliuotės prietakos į Žemės paviršių dedamoji yra bendroji trumpabangė spinduliuotė – tiesioginės Saulės spinduliuotės ir dangaus skliauto (debesų ir pačios atmosferos) išsklaidytosios spinduliuotės suma.

Lietuvoje Saulės spinduliuotė yra matuojama septyniose meteorologijos stotyse. Todėl, norint įvertinti bendrosios Saulės spinduliuotės kaitos tendencijas Lietuvos teritorijoje minėtų stočių duomenų nepakanka.

Darbe buvo panaudota 18 meteorologijos stočių bendro debesuotumo duomenys ir pagal juos empiriškai apskaičiuota bendroji Saulės spinduliuotė. Taip pat naudojant palydovinius bendrosios saulės spinduliuotės duomenis buvo empiriškai apskaičiuotas bendrasis debesuotumas.

Atlikus skaičiavimus nustatyta, jog vidutinė visos Lietuvos teritorijos apskaičiuotoji bendroji Saulės spinduliuotė varijuoja nuo 561 MJ/m^2 birželį iki 36 MJ/m^2 gruodį, o per metus vidutiniškai gaunama 3606 MJ/m^2 . Mažiausi Saulės spinduliuotės kiekiai per metus yra Šilutėje (2358 MJ/m^2), o didžiausi Dotnuvoje (3833 MJ/m^2).

Pagal palydovinius bendrosios Saulės spinduliuotės duomenis Lietuvos teritorija vidutiniškai per metus gauna 3540 MJ/m^2 ir tai yra 2 % (66 MJ/m^2) mažiau nei apskaičiuotoji spinduliuotė. Didžiausi skirtumai tarp palydovinės ir apskaičiuotosios bendrosios Saulės spinduliuotės vasarą Šilutės MS (+268 (19 %) MJ/m^2) ir rudenį Vilniaus MS (–79 (–15 %) MJ/m^2).

Sudaryti nauji Saulės spinduliuotės ir debesuotumo žemėlapiai, kurie gali būti pritaikyti įvertinant Saulės energijos potencialą Lietuvos teritorijoje.

Kosminių mokslinių misijų duomenys ir jų taikymas Lietuvos vandens telkinių aplinkotyroje ir aplinkosaugoje

Diana Vaičiūtė

Klaipėdos universitetas

Kai kurie moksliniai prietaisai, skirti jūriniam tyrimams, skrieja kosmose. Europos kosmoso agentūros (EKA) ir NASA palydovuose esantys spektrometrai skriedami apie Žemę fiksuoja saulės radiaciją, kurią sugeria arba atspindi vandens paviršius, jame esančios pakibusios dalelės, mikroskopiniai dumbliai, ištirpusi organinė medžiaga. Kosminiai duomenys tampa inovatyviu ir vertingu informacijos šaltiniu atliekant didelių vandens sistemų stebėseną dėl didėjančio žmogaus poveikio ir klimato kaitos. Pirmieji tyrimai susiję su kosminių duomenų panaudojimu ir taikymu Lietuvoje pradėti neseniai: 2009 m. Kuršių mariose ir 2010 m.

Baltijos jūros Lietuvos priekrantėje. Dėmesys buvo skiriamas EKA Envisat palydovo MERIS optinio sensoriaus duomenų validacijai. Gauti rezultatai parodė, jog panaudojant kosminius duomenis galima tiksliai įvertinti pagrindinių vandens kokybės indikatorių daugiamečių pokyčius, kartografuoti vandens „žydėjimo“ procesus, melsvabakterių sankauptų erdvinį pasiskirstymą, nustatyti aplinkos būklę pagal Bendrosios Vandens Politikos ir Jūrų Strategijos Pagrindų Direktyvos rekomendacijas.

Pastaruoju metu didelis dėmesys yra skiriamas naujos kartos COPERNICUS programos kosminiams duomenims ir jų panaudojimui. Šiuo pranešimu siekiama:

- i) pristatyti kosminių duomenų panaudojimą siekiant įvertinti vandens telkinių kokybę, ekologinius procesus bei biologinį užterštumą;
- ii) aptarti šiais duomenimis grįsto Lietuvos paviršinių vandenų aplinkos kokybės vertinimo bei stebėsenos sistemos vystymo galimybes.

MEDICINOS SEKCIJA

Paveldimos neuropatijos: epidemiologinė ir mutacijų analizė *GJB1* gene

Birutė Burnytė¹, I. Uktvėrytė¹, L. Ambrozaitytė¹, V. Kučinskas¹, A. Utkus¹

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

Charcot Marie Tooth (CMT) liga yra genetiškai ir kliniškai nevienalytė paveldimų periferinių neuropatijų grupė, kuriai būdingas lėtai progresuojantis distalinis išsekimas, silpnumas ir jutimų praradimas. Nors yra aprašyta daugiau nei 80 genų, kurių mutacijos lemia CMT, pastebimas kliniškai skirtingų subjektų genotipo ir fenotipo sutapimas, kuris yra iššūkis CMT klasifikacijai.

Dėl CMT heterogeniškumo genetiniai tyrimai yra vienintelis būdas nustatyti tikslią CMT etiologiją ir tinkamai klasifikuoti ligos atvejus. Ilgai vyravusi klinikinė aplinkos ir genetinių ligos priežasčių samprata sulaukė naujo dėmesio, atsiradus genetiniams įrankiams, kurie siūlo naujas analitines strategijas. Genetinių priežasčių nustatymas sparčiai progresavo per pastaruosius penkerius metus. Be atskirų tyrimų naudos suteikė ir inovatyvi genomo duomenų sklaida tarp skirtingų šalių mokslininkų ir tai paskatino CMT bendruomenės bendradarbiavimą. Šių tyrimų dėka nuo 2012 m. buvo paskelbta daugiau nei 30 naujų genų. Tačiau, vis dar daugiau negu 50 % aksoninio tipo CMT pacientų neturi tikslios diagnozės, todėl viso genomo sekvenavimas turėtų atverti naujas galimybes. Šis pranešimas pateikia apžvalgą ir konkrečius pavyzdžius apie Lietuvos pacientų kohortos tyrimus.

Farmakogenetika psichiatrijoje – kelias į individualizuotą gydymą

Edgaras Długauskas^{1,2}, Aistė Lengvenytė¹, Robertas Strumila¹, Algirdas Utkus^{1,2}

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas, ²Vilniaus universiteto ligoninė Santariškių klinikos

Įvadas. Individualizuotas, į konkretų pacientą nukreiptas, gydymas yra vienas iš svarbiausių šiuolaikinės medicinos tikslų. Genetiniai tyrimai padedami taikyti ir psichiatrijoje. Dėmesio centre – CYP450 šeimos fermentų, atsakingų už didelės dalies psichotropinių vaistų metabolizavimą, genetinis polimorfizmas. Dėl genų variacijų, fermento veiklumas gali skirtis net iki 1000 kartų. Iki šiol klinikinėje praktikoje psichotropinių vaistų parinkimas vykdomas empiriškai, – remiantis klinikinio atsaku arba jo nebuvimu, bei pašalinių reiškinių atsiradimu. Tai daro įtaką ne tik neretai pasitaikančiai gydymo nesėkmei, bet ir pacientų nepasitikėjimui gydymo tikslingumu. Naujausi tyrimai rodo, kad CYP450 fermentų genotipo nustatymas gali padėti kryptingai parinkti vaistus bei jų dozes.

Metodika. Retrospektyviu būdu genetiniam tyrimui buvo atrinkti penki Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų psichiatrijos skyriuje dėl afektyvių sutrikimų gydęsi pacientai. Paimti jų kraujo mėginiai, iš kurių išskirta DNR ir atlikta jos genetinė analizė: polimerazės grandininės reakcijos ir mikrogardelių metodu pagrįstas genotipo identifikavimas, naudojant AutoGenomics Infiniti Plus automatizuotą analizatorių. Pagal CYP2C19, CYP2C9 ir CYP2D6 fermentų genetinį polimorfizmą sugeneruota automatinė ataskaita, kuri buvo palyginta su buvusio farmakologinio gydymo eiga.

Rezultatai. Keturiems iš penkių pacientų nustatytas CYP2C19 genetinis polimorfizmas, lemiantis vidutinio stiprumo metabolizuotojo fenotipą. Retrospektyviai įvertinę farmakologinio gydymo eigą, nustatėme, kad trims pacientams šio genetinio varianto buvimas galėjo būti kliniškai reikšmingas. Pakitusių CYP2C9 ir CYP2D6 alelių nenustatyta.

Išvados. Farmakogenetinio tyrimo atlikimas galėjo turėti įtakos skiriant gydymą trims iš penkių vertintų pacientų. Reikalingi tolesni didesnės apimties farmakogenetiniai tyrimai, palyginantys klinikinį efektyvumą, genetinio tyrimo rezultatus bei vaisto koncentraciją kraujo serume.

Sąsajos tarp vaikystėje patirtų traumuojančių įvykių ir specifinių psichozinių simptomų vaikams, patyrusiems pirmąjį psichozės epizodą

Rimtautė Gumbienė, S. Lesinskiene

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Psichiatrijos klinika

Įvadas: Vis daugėja studijų, įrodančių, jog vaikystėje patirti traumuojančius įvykiai (TI) didina psichozės išsivystymo riziką. Pasirodant duomenims, jog nutraukus TI mažėja psichozės pasikartojimo tikimybė, siekėme iširti ryšį tarp skirtingų TI bei specifinių simptomų pirmojo psichozės epizodo (PPE) metu, kas galėtų padėti spręsti susijusias problemas klinikinėje praktikoje.

Metodika: Atlikta 91 paciento iki 18 m., gydyto dėl PPE (dgn. F20-29, F30-33) RVPL 2009–2015 m., retrospektyvinė ligos istorijų analizė. Analizuojant anamnezės, klinikinio bei psichologinio vertinimo duomenis, surinkta informacija apie vyravusius psichozės simptomus (haliucinacijas, klaidesius, paranoją, didybės idėjas, negatyvią simptomatiką), patirtus TI (patyčias, seksualinę, fizinę bei emocinę prievartą), kitus psichosocialinius rizikos veiksnius. Statistinė analizė atlikta SPSS 21.0, duomenų priklausomybė vertinta ϕ koeficientu.

Rezultatai: Komorbidinių sutrikimų turėjimas teigiamai koreliavo su seksualine prievarta ($\phi = 0,25$; $p = 0,017$). Patyčios ($\phi = 0,355$; $p = 0,025$), fizinė ($\phi = 0,382$; $p = 0,016$) bei emocinė ($\phi = 0,339$; $p = 0,032$) prievarta mergaičių grupėje – su paranoja, tuo tarpu patyčios tarp berniukų – su negatyvia simptomatika ($\phi = 0,28$; $p = 0,046$). Seksualinė prievarta tarp alkoholio nevartojančių siejosi su didybės idėjomis ($\phi = 0,303$; $p = 0,018$). Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp simptomatikos ir kitų rizikos faktorių nustatyta nebuvo ($p > 0,05$).

Išvados: Tyrimo rezultatai papildė egzistuojančius įrodymus, jog vaikystėje patirti TI turi įtakos psichozės išsivystymui, tuo pačiu atskleidami specifinį ryšį tarp konkrečios patirties bei simptomatikos. Tikslinant šį ryšį, ateityje turėtų būti atliekamos studijos analizuojant didesnę tiriamųjų imtį.

Bibliografija:

1. Díaz-Caneja, C.M. et al., 2015. Predictors of outcome in early-onset psychosis: a systematic review. npj Schizophrenia, 1, p.14005.
2. Trotta, A. et al., 2016. Impact of Different Childhood Adversities on 1-Year Outcomes of Psychotic Disorder in the Genetics and Psychosis Study. Schizophrenia Bulletin, 42(2), pp.464–475.
3. Kelleher, I. et al., 2013. Childhood trauma and psychosis in a prospective cohort study: cause, effect, and directionality. The American Journal of Psychiatry, 170(7), pp.734–741.
4. Lim, M.H. & Gleeson, J.F., 2014. Social Connectedness Across the Psychosis Spectrum: Current Issues and Future Directions for Interventions in Loneliness. Frontiers in Psychiatry,
5. Schäfer, I. & Fisher, H.L., 2011. Childhood trauma and psychosis – what is the evidence? Dialogues in Clinical Neuroscience, 13(3), pp.360–365.
6. Varese, F. et al., 2012. Childhood Adversities Increase the Risk of Psychosis: A Meta-analysis of Patient-Control, Prospective- and Cross-sectional Cohort Studies. Schizophrenia Bulletin, p.sbs050.
7. Shakoor, S. et al., 2014. A Shared Genetic Propensity Underlies Experiences of Bullying Victimization in Late Childhood and Self-Rated Paranoid Thinking in Adolescence. Schizophrenia Bulletin, p.sbu142.

Naujagimių galvos apimtis – svarbus augimo ir sveikatos rizikos rodiklis

Rūta Morkūnienė, Janina Tutkuvienė

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Anatomijos, histologijos ir antropologijos katedra

Naujagimių galvos apimtis – ypatingai reikšmingas antropometrinis gimimo parametras, atspindintis vaisiaus raidą intrauteriniu laikotarpiu. Gerėjant perinatalinei, naujagimių intensyviosios terapijos priežiūrai ir neišnešiotų naujagimių išgyvenamumo rodikliams, gerėja jų sveikatos perspektyvos. Daugelis mokslinių studijų (Bertino E et al, J Biol Regul Homeost Agents., 2012; Tudehope D et al, J Paediatr Child Health., 2012) kelia klausimą apie tinkamą tokių naujagimių postnatalinio augimo vertinimą, žinant būdingus šiai populiacijai ekstraterininio augimo sutrikimo, lydimo „augimo atsigriebimo“ (*catch-up growth*), dėsninumus. Barker ir kt. aprašytas „vaisiaus augimo programavimas“ (*fetal growth programming*), galimai sukelia epigenetinius pokyčius, lemiančius didesnę neišnešiotų naujagimių kardiovaskulinių ligų ir metabolinio sindromo vystymosi riziką ateityje (Schubert U et al, Acta Paediatr., 2013; Hui LL et al, Obesity (Silver Spring), 2015). Daugėja tyrimų, atrandančių sąsają tarp naujagimių galvos apimties gimimo momentu, jos postnatalinio augimo dinamikos su trumpalaikiais vaikystės ir ilgalaikiais sveikatos būklės rizikos veiksniais paauglystės ir ankstyvosios brandos laikotarpiais (Ranke MB et al, Dev Med Child Neurol., 2015; Sammallahti S et al, J Pediatr., 2014). Taigi naujagimių galvos apimtis yra svarbus sveikatos rizikos rodiklis įvairiais žmogaus raidos periodais, kurio augimo adekvatus vertinimas leistų nustatyti didžiausią skaičių naujagimių, kuriems gresia ilgalaikiai augimo sutrikimai ir parinkti sveikatos prevencijos priemones „judančio taikinio“ kontekste (Glass HC et al, Anesth Analg., 2015).

Lietuvos populiacijos evoliucinių ryšių analizė

Alina Urnikytė, A. Molytė, E. Pranckevičienė, V. Kučinskas

Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedra

Dabartinė Lietuvos populiacija yra sudaryta iš ankstesnių baltų genčių ir valstybių, kas galėjo nulėmti genetinį heterogeniškumą Lietuvoje. Nuo neolito laikotarpio Lietuvos teritorijos gyventojų nepakeitė jokia kita etninė grupė. Tikėtina, kad dabartinės Lietuvos gyventojai išsaugojo savo senųjų protėvių genų fondą. Šio darbo tikslas buvo atskleisti lietuvių populiacijos demografinius istorinius aspektus ir kilmę remiantis nustatytu efektyviu populiacijos dydžiu (*Ne*). Taip pat buvo rekonstruoti praeities įvykiai tarp dviejų pagrindinių Lietuvos populiacijos etnolingvistinių grupių (aukštaičių ir žemaičių).

Darbe panaudoti 295 asmenų, iš bendros lietuvių populiacijos, *Illumina 770K HumanOmniExpress-12v1.0* lustų genotipavimo duomenys. Efektyvus populiacijos dydis ir divergencija, tarp Lietuvos ir HGDP-CEPH populiacijų, nustatyti pasinaudojant R programos NeON paketu. Divergencijos analizės rezultatai vizualizuoti panaudojant R programos *phangorn* paketą.

Nustatytas Lietuvos populiacijos *Ne* yra 5404, o tarp Lietuvos populiacijos etnolingvistinių grupių *Ne* svyravo nuo 4940 (vakarų žemaičiai) iki 5314 (vakarų aukštaičiai). Žiedinio klasterizavimo UPGMA metodu sudarytame tirtų lietuvių ir HGDP-CEPH populiacijų filogenetiniame medyje vizualizuotos penkios grupės: Afrikos, Rytų Azijos, Europos, pietų Centrinės Azijos

ir vidurio Rytų Azijos. Remiantis divergencijos analize nustatytas divergencijos laikas tarp Lietuvos ir kitų tirtų populiacijų. Divergencijos laikas tarp Lietuvos ir Afrikos nustatytas prieš 52 tūkstančius metų. Anksčiausias divergencijos laikas nustatytas tarp Lietuvos ir Rusijos prieš 2814 metų. Tyrimo metu nustatyta, kad Lietuva pirma divergavo nuo vidurio rytų Azijos prieš 8880 metų lyginant su kitomis tirtomis Europos populiacijomis.

CUGBP2 ir HuR baltymų nulemtos potranskripcinės reguliacijos įtaka kasos adenokarcinomos atsparumui priešvėžiniams vaistams

Aldona Jasukaitienė, Žilvinas Dambrauskas, Antanas Gulbinas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Išsivysčiusiose šalyse kasos adenokarcinoma yra ketvirta mirties nuo onkologinių ligų priežastis. Kasos adenokarcinomos atsakas į chemoterapinį gydymą gali būti sumažėjęs dėl pakitusios potranskripcinės reguliacijos.

Šio darbo tikslas buvo įvertinti potranskripcinės reguliacijos pokyčių efektą citoprotekcinų molekulių COX-2 ir HO-1 raiškai bei atsakui į vaistą gemcitabiną kasos adenokarcinomoje.

Analizei buvo naudojami kasos audiniai bei kasos adenokarcinomos ląstelės. Molekulių raiška ląstelėse buvo moduluojama nutildant ir atitinkamai stimuliuojant HuR ir CUGBP2 genus bei taikant chemoterapinį gydymą. Raiška įvertinta TL-PGR, Western Blot ir imunohistocheminiu metodu, gyvybingumas – MTT metodu.

Kasos vėžiniuose audiniuose, lyginant su sveiku kasos audiniu, RNR surišančių baltymų CUGBP2 ir HuR molekulių kiekis buvo statistškai patikimai pakitęs.

Po GEM poveikio analizuojamų molekulių raiška statistškai patikimai padidėjo lyginant su kontroline grupe. Po HuR transfekcijos ir GEM poveikio, lyginant su grupe veikta tik GEM, citoprotekcinų baltymų sintezė sumažėjo, ląstelių gyvybingumas sumažėjo iki 11,61–53,7 proc.

Kurkuminu buvo indukuota CUGBP2 raiška. Kurkumino ir GEM kombinacijoje citoprotekcinų baltymų sintezė sumažėjo, ląstelių gyvybingumas siekė 42,7–2,6 proc., lyginant su ląstelėmis veiktomis gemcitabinu.

Moduluojant už potranskripcinę genų raišką atsakingų molekulių sintezę kasos adenokarcinomos ląstelėse, atsakas į chemoterapinį gydymą pagerėjo.

Gerklų plokščiųjų ląstelių karcinomos ir gerklų papilomos biologinės išraiškos viščiuko embriono chorioalantoininėje membranoje

Alina Kuzminienė

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Aušų, nosies ir gerklės ligų klinika

Gerklų plokščiųjų ląstelių karcinoma (GPLK) yra antras pagal dažnumą viršutinių kvėpavimo takų piktybinis navikas, o gerklų papilomatozė (GP) yra dažniausiai diagnozuojamas nepiktybinis gerklų navikas. Iki šiol atliktos mokslinės studijos nepaaiškina daugelio GPLK ir GP augimo, plitimo ir atsinaujinimo mechanizmų žmogaus organizme. Klinikinėje praktikoje taikomi sprendimai remiasi eksperimentinių *in vitro*, epidemiologinių ir kitokio dizaino studijų rezultatais, kuriais neįmanoma nustatyti tikslų šių navikų patofiziologinių procesų. Todėl, nepaisant mokslinių

pasiekimų, modernių diagnostikos ir gydymo naujovių įdiegiamų į klinikinę praktiką, GPLK ir GP ligos eiga yra vis dar sunku kontroliuoti.

Mūsų darbo tikslas buvo sukurti GPLK bei GP *in vivo* eksperimentinį modelį, implantuojant šių navikų audinių gabalėlius ant viščiuko embriono chorioalantojinės membranos (CAM) ir nustatyti joje bei prigijusiuose navikiniuose audiniuose vykstančius pakitimus bei šių pokyčių klinikinę svarbą.

Atlikę tyrimą nustatėme, kad implantuoti navikai, prigiję ant CAM, sukelia jos charakteringus makroskopinius pokyčius bei sudaro sąlygas mikroskopiniams, morfologiniams bei morfometriams eksperimentinių navikų tyrimams. Be to pastebėjome statistiškai reikšmingas tiesiogines sąsajas tarp prigijusių GPLK ir GP gabalėlių poveikio CAM ir pacientų, iš kurių GPLK ir GP gabalėliai buvo imti, klinikinės ligos eigos. Todėl manome, kad viščiuko embriono CAM yra tinkama ir perspektyvi terpė eksperimentiniams GPLK ir GP modeliams kurti.

LINE-1 metilinimo lygmens tyrimas įvairiuose skrandžio kancerogenezės proceso etapuose

Rūta Steponaitienė¹, Juozas Kupčinskas^{1,2}, Cosima Langner³, Giedrė Smalytė^{4,5}, Jurgita Skiecevičienė¹, Limas Kupčinskas^{1,2}, Peter Malfertheiner³, Alexander Link³

¹Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Virškinimo sistemos tyrimų institutas

²Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Gastroenterologijos klinika

³Otto-von-Guericke universiteto Gastroenterologijos, hepatologijos ir infekcinių ligų klinika Magdeburgas, Vokietija

⁴Nacionalinis vėžio instituto Lietuvos vėžio registras

⁵Vytauto Didžiojo Universitetas Demografinių tyrimų centras

Objektas: LINE-1 metilinimo lygmuo naudojamas kaip biologinis žymuo, atspindintis viso genomo DNR metilinimo profilį, kuris dažnai yra pakitęs vėžinių susirgimų atvejais. Šio tyrimo tikslas – nustatyti LINE-1 metilinimo lygį įvairiose skrandžio kancerogenezės stadijose ir įvertinti jo prognostinį potencialą.

Metodai: LINE-1 metilinimas buvo tirtas bisulfitinio pirosekvenavimo metodu. Į tyrimą įtraukta 80 skrandžio vėžiu sergančių pacientų vėžinis (T-GC) ir šalia esantis sveikas (N-GC) skrandžio audinys, 24 kolorektaliniu vėžiu sergančių pacientų vėžinis (T-CRC) ir sveikas (N-CRC) storosios žarnos audinys, 19 skrandžio audinio mėginių sveikųjų kontrolinėje grupėje (N) ir 37 sergančiųjų lėtiniu gastritu (CG) skrandžio audinio mėginiai.

Rezultatai: LINE-1 hipometilinimas nustatytas tiek skrandžio, tiek storosios žarnos vėžiniuose audiniuose palyginti su jiems poriniais sveikais audiniais. LINE-1 metilinimo lygmuo buvo toks pats palyginus rezultatus kontrolinėje grupėje (N), lėtinio gastrito grupėje (CG) ir endoskopiškai sveikame audinyje sergančiųjų skrandžio vėžiu grupėje (N-GC). Atlikus subgrupių analizę (vėžio stadijos, anatominės lokalizacijos, histologinio subtipo, diferenciacijos laipsnio, *Helicobacter pylori* statuso) negauta reikšmingų LINE-1 metilinimo lygmens skirtumų. Mūsų tiriamojoje grupėje nustatytos panašios išgyvenamumo trukmės tendencijos tarp pacientų, turinčių aukštą ar žemą LINE-1 metilinimo lygmenį.

Išvados: LINE-1 hipometilinimas yra būdingas bruožas skrandžio vėžio audiniuose, tačiau jis retai aptinkamas ankstyvose priešvėžinėse skrandžio būsenose. Remiantis studijos rezulta-

tais, mes negalėtume patvirtinti prognostinės LINE-1 hipometilinimo vertės skrandžio vėžio pacientams.

DNR metilinimo žymenys prostatos vėžio diagnostikai ir ligos eigos prognozei

Kristina Daniūnaitė^{1,2}, Sonata Jarmalaitė^{1,2}

¹Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centras

²Nacionalinis vėžio institutas

DNR metilinimo pokyčiai yra būdingi vystantis vėžiui ir gali lemti tiek kancerogenezės iniciaciją, tiek ir ligos progresiją, todėl yra labai perspektyvūs kaip molekuliniai žymenys klinikinėje praktikoje.

Siekiant aptikti naujus molekulinis prostatos vėžio žymenis, atliktas visuminis DNR metilinimo profiliavimas mikrogardelėmis. Nustatyta ≥ 1000 genų reguliacinių sričių pokyčių tarp prostatos vėžio (PV) ir morfologiškai nepakitusių audinių (NP) bei lyginant atvejus su ir be biocheminės ligos progresijos (BP). Atrinkta 20 genų-taikinių, kurių metilinimas detaliau analizuotas 129 PV, 35 NP ir 17 gerybinės prostatos hiperplazijos mėginių. Nustatyti reikšmingi *CCDC181*, *PRKCB*, *NAALAD2* ir kt. genų metilinimo skirtumai, kurie patikimai koreliavo su šių genų raiška. Metilinimo pokyčių taip pat rasta mikroRNR koduojančių genų reguliacinėse srityse. Genų *MIR155HG*, *PRKCB* ir kt. metilinimo statusas buvo susijęs su BP ir išgyvenamumo modeliuose pranoko kai kurių klinikinių rodiklių (ligos stadijos, Gleason balo) prognostinę vertę. Be to, nustatytos statistiškai patikimos sąsajos su įvairiais kitais klinikiniais-patologiniais rodikliais.

Apibendrinant, naujai identifikuoti DNR metilinimo žymenys yra specifiški prostatos vėžiniam audiniui ir turi potencialią klinikinę vertę, prognozuojant PV progresiją.

Žarnyno mikrobiotos transplantacijos efektyvumas gydant pasikartojančią *C. difficile* infekciją

Juozas Kupčinskas

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Virškinimo sistemos tyrimo institutas

Įvadas: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) infekcija yra viena dažniausių hospitalinių infekcijų, galinčių sukelti letalinę išėitį, ypač vyresnio amžiaus ligoniams. Esant sunkioms pasikartojančioms šios ligos formoms, nuo gydymui yra taikoma žarnyno mikrobiotos transplantacija (ŽMT), tačiau šio gydymo metodo veiksmingumas nėra pilnai iširtas. Šio tyrimo tikslas yra įvertinti ŽMT efektyvumą, esant rekurentinei *C. difficile* infekcijai.

Metodai: Į tyrimą įtraukti pacientai, kuriems 2015–2016 LSMUL KK Gastroenterologijos klinikoje buvo atlikta ŽMT. Į analizę įtraukti pacientų klinikiniai duomenys, naudoti antibiotikai, imunosupresantai. Dėl ligos pasikartojimo pacientai buvo stebimi iki 2015 spalio mėn. 31 d. Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant SPSS 17.0 programą.

Rezultatai: Dėl pasikartojančios *C. difficile* infekcijos ŽMT buvo atlikta 17 pacientų. Recipientų amžiaus vidurkis buvo $60,1 \pm 12$ m. Visos ŽMT procedūros atliktos naudojant nasoenterinį zondą. Po pirmos ŽMT klinikinis efektas buvo gautas 14 iš 17 (82,4 %) pacientų. Pakartotinė procedūra atlikta 2 iš 3 nesėkmingų pradinių ŽMT. Po pakartotinės ŽMT bendras klinikinis pro-

cedūros efektyvumas buvo stebėtas 16 iš 17 pacientų (94,1 %). Imunosupresantų naudojimas buvo dažnesnis pacientų tarpe, kuriems pirmoji ŽMT buvo neefektyvi (3/3; 100 %), lyginant su pacientais, kuriems buvo gautas teigiamas klinikinis atsakas (1/14; 7,1 %; (p = 0,028).

Išvada: Žarnyno mikrobiotos transplantacija yra efektyvus pasikartojančios *C. difficile* infekcijos gydymo metodas. ŽMT procedūros efektyvumas gali būti susijęs su pacientų naudojamais imunosupresiniais vaistais.

Barbitūratų anestezijos apsauginiai mechanizmai smegenų ląstelėms po išemijos: mitochondrijų I kompleksio vaidmuo

Evelina Rekuviene¹, Laima Ivanovienė¹, Vilmantė Borutaitė², Ramunė Morkūnienė^{1,2}

¹Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Biochemijos katedra

²Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Neuromokslų institutas

Išeminė smegenų liga ir insultas yra viena pagrindinių priežasčių, sukeliančių mirtį ar invalidumą. Smegenų išemijos metu sutrikus kraujotakai ir esant deguonies stokai vystosi smegenų ląstelių žūtis, o žūties mechanizme dalyvauja mitochondrijos. Klinikoje naudojami vaistai insultui gydyti turi tik smegenų kraujotaką gerinantį poveikį. Todėl tyrimai siekiant apsaugoti mitochondrijas ir tuo pačiu smegenų ląsteles nuo išemijos sąlygotą pažeidimą yra perspektyvūs ieškant naujų efektyvių terapinių priemonių.

Darbo tikslas – ištirti barbitūratų grupės anestetiko pentobarbitalio poveikį izoliuotų smegenų mitochondrijų funkcijoms ir ląstelių gyvybingumui smegenų pjūviuose po 2 val. išemijos. Nustatėme, kad 2 val. išemija sąlygoja mitochondrijų izoliuotų iš žievės ir smegenėlių zonų nespecifinį pralaidumą, kvėpavimo funkcijų pažeidimą bei smegenų ląstelių žūtį. Pentobarbitalio anestezija turi smegenis apsaugantį poveikį išemijos sąlygomis: blokuoja mitochondrijų nespecifinio pralaidumo poros atsiskyrimą, pagerina žievės ir smegenėlių mitochondrijų kvėpavimo funkcijas su įvairiais kvėpavimo substratais, ir sumažina smegenų ląstelių žūtį žievės ir smegenėlių zonoje.

Remiantis gautais rezultatais galime teigti, kad pentobarbitalio anestezijos apsauginis poveikis smegenų mitochondrijoms susijęs su mitochondrijų kvėpavimo grandinės I kompleksio slopinimu, dėl ko pagerėja mitochondrijų atsparumas nespecifiniam pralaidumui ir mitochondrijų kvėpavimo funkcija ir taip apsaugo smegenų ląsteles nuo išemijos sukeltos nekrozės.

BIOCHEMIJOS IR BIOTECHNOLOGIJOS SEKCIJA

Biofizikiniais modeliais grįsti daugiamatės analizės metodai, skirti gyvųjų audinių ir sistemų funkcinėms savybėms tirti

Robertas Petrolis

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Sparti šiuolaikinių elektronikos ir informacinių technologijų pažanga atveria vis naujas galimybes spręsti problemas, kurios kasdien atsiranda žmogaus sveikatos priežiūros specialistams. Vis atsirandantys nauji būdai registruoti akustinius, elektrinius signalus bei labai plataus

spektro optinius vaizdus leidžia tikėtis surasti naujų reikšmingų požymių klinikinių sprendimų palaikymui. Kuo didesnis sukaupėtų multimodalinių duomenų kiekis tuo didesnė galimybė jų mišiniuose ar junginiuose, kurie daugialypiū būdu gali atspindėti medicininei diagnostikai svarbią informaciją nuo pavienių ląstelių, organų iki viso organizmo sistemų, rasti kliniškai svarbios informacijos bei sunkiau iš jų suvokti tyrinėjamo objekto ar sistemos ypatybes ir atmesti menkaverčius faktus. Čia gali padėti daugiamatės analizės metodai, leidžiantys kompleksiskai nagrinėti daugybę savybių, apibūdinančių objektus ar reiškinius. Jais transformavus turimus didelės apimties duomenis galime detaliau suprasti reikalingų duomenų struktūrą: susidariusias sankaupas, išskirtis, požymių tarpusavio panašumą ar skirtingumą. Nors daugiamatės analizės metodai (pvz. Pagrindinių komponentų analizės metodas, Nepriklausomų komponentų analizės metodas ir kt.) sukurti pereinamo amžiaus 6-ajame bei 7-ajame dešimtmėčiuose, įgijo realaus praktinio panaudojimo galimybes tik šio amžiaus pradžioje, sparčiai vystantis informaciniams technologijoms ir didėjant kompiuterių resursams. Efektyvus šių galimybių panaudojimas taikant pažangiausias vaizdinimo bei matematinio informacijos apdorojimo metodus atskleidžia gyvųjų audinių ir sistemų patologinius pokyčius bei šių pokyčių tarpusavio ryšius, lemiančius ligų patogenezę.

Bakteriofagų struktūrinių baltymų naudojimas savitvarkėms hibridinėms nanostruktūroms

Eugenijus Šimoliūnas¹, Simona Povilonienė¹, Lidija Truncaitė¹, Rasa Rutkienė¹, Vida Časaitė¹, Laura Kalinienė¹, Simonas Pajeda¹, Karolis Goda², Rolandas Meškys¹

¹Vilniaus universiteto Jungtinio gyvybės mokslų centro Biochemijos institutas

Molekulinės mikrobiologijos ir biotechnologijos skyrius

²Vilniaus universiteto Jungtinio gyvybės mokslų centro Biochemijos institutas Eukariotų genų inžinerijos skyrius

Bakterijas infekuojantys virusai (bakteriofagai) – vieni gausiausių mikroorganizmų Žemėje. Žinoma, kad kai kurie šių virusų rekombinantiniai kapsidžių, uodegėlės ar fibrilių baltymai *in vivo* ir *in vitro* gali formuoti savaime susirenkančias, griežtai apibrėžtas, stabilias struktūras. Kita vertus, vis dar nėra tirta ar tokių baltymų hibridai su fermentais taip pat galėtų sudaryti stabilias, efektyviai veikiančias sistemas, kurios ateityje galėtų būti sėkmingai naudojamos nanobiomedicinoje, nanobiotechnologijoje ir kitose srityse. Šio darbo pagrindinis tikslas yra panaudoti fagų struktūrinius baltymus tikslingam savitvarkių hibridinių nanostruktūrų gavimui. Šiam tikslui pasiekti buvo izoliuoti ir charakterizuoti įvairias bakterijas infekuojantys bakteriofagai. Bioinformatikos, proteomikos ir kitais metodais identifiukuoti nauji faginai struktūriniai baltymai, atrinkti potencialūs kandidatai savitvarkių kompleksų konstravimui *in vivo* ar *in vitro*. Gautos *Klebsiella* bakteriofago RaK2 gp041 (uodegėlės apvalkalo baltymo) ir *E. coli* bakteriofago FV3 gp053 (uodegėlės apvalkalo baltymo) bei NBD2 gp039 (pagrindinio uodegėlės baltymo) formuojamos savitvarkės vamzdelinės nanostruktūros. Optimizuotos šių struktūrų gryninimo sąlygos, taip pat tirtas neigiamų aplinkos veiksnių (aukštos temperatūros, tripsino, UREA) poveikis struktūrų stabilumui. Gautos nanostruktūros iš mutantinių, įvairių amino rūgščių delecijų kiekį turinčių baltymų. Taip pat gautos chimerinių baltymų (sudarytų iš bakteriofagų struktūrinių baltymų ir peptidų ar fermentų) formuojamos nanostruktūros, atlikti jų tyrimai.

Parvoviruso B19 kapsidės baltymo VP1 unikalaus regiono poveikis endotelinėms ląstelėms

Egidijus Šimoliūnas^{1,2}, Julius Bogomolovas^{2,3}

¹Vilniaus universiteto Jungtinio gyvybės mokslų centro Biochemijos instituto Biologinių modelių skyrius

²Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Patologijos, teismo medicinos ir farmakologijos katedra

³Manheimio medicinos fakulteto Integruotos patofiziologijos skyrius, Manheimas, Vokietija

Dilatacinė kardiomiopatija (DCM) yra labiausiai pasaulyje paplitusi kardiomiopatijos forma, dažniausiai nulemianti širdies nepakankamumo išsivystymą. 100-tui tūkstančių gyventojų diagnozuojami 5–8 nauji DCM atvejai per metus. 30–50 metų gyventojų grupėje tai sudaro net 20 atvejų 100-tui tūkstančių gyventojų (Lakdawala *et al.*, 2013). DCM gali sukelti įvairūs veiksniai, tačiau dažniausios šios ligos atsiradimo priežastys yra genetinės arba uždegiminės kilmės. Šiuo metu vis didesnis dėmesys yra skiriamas miokarditui (MK), nes manoma, kad net 21 % ūmaus MK progresuoja į DCM (Shauer *et al.*, 2013). Tarp pagrindinių MK sukėlėjų yra įvardijami virusai, dėl šios priežasties jie yra siejami ir su DCM. Vienas iš dažniausių virusų, kurio genomai yra randami tiek pacientų sergančių DCM, tiek ir ūmiu MK, yra parvovirusas B19 (PV-B19). Tačiau, jo įtaka MK yra vertinama labai įvairiai: jis laikomas ir nespecifiniu miokardo pažeidimo žymeniu, ir automimunį atsaką iššaukiančiu veiksniu, sukeliančiu DCM. Nors tiesioginių įrodymų, kad PV-B19 gali sukelti MK ar DCM nėra, tačiau žinoma, kad šio viruso kapsidės baltymo VP1 unikalaus regiono (VP1u) injekcija pelėms sukelia MK, kuris progresuoja į DCM (Bogomolovas *et al.*, 2016). Nustatyta, VP1u sukelia MK ir DCM pažeisdamas kraujagyslių endotelines ląsteles. Todėl šiame darbe ištirtas PV-B19 VP1u poveikis endotelinėms ląstelėms *in vitro* sistemoje.

Literatūra:

1. Lakdawala NK, Winterfield JR, Funke BH. Dilated cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2013 Feb;6(1):228–37. doi: 10.1161/CIRCEP.111.962050. Epub 2012 Sep 28.
2. Shauer A, Gotsman I, Keren A, Zwas DR, Hellman Y, Durst R, Admon D. Acute viral myocarditis: current concepts in diagnosis and treatment. *Isr Med Assoc J.* 2013 Mar;15(3):180–5.
3. Bogomolovas J, Šimoliūnas E, Rinkūnaitė I, Smalinskaitė L, Podkopajev A, Bironaitė D, Weis CA, Marx A, Bukelskienė V, Gretz N, Grabauskienė V, Labeit S, Labeit D. A novel murine model of parvovirus associated dilated cardiomyopathy induced by immunization with VP1 unique region of parvovirus B19. *Biomed Res Int.* 2016 (2016).

Egzonukleazinis domenas padeda CRISPR-Cas sistemos iš *Streptococcus thermophilus* adaptacijai

Gediminas Drabavičius, Arūnas Šilanskas, Tomas Šinkūnas, Giedrius Gasiūnas

Vilniaus universiteto Biotechnologijos institutas

Vienas iš bakterijų ir archėjų apsaugojimo nuo virusų būdas yra CRISPR-Cas sistemos. Šios sistemos leidžia prokariotams „atsiminti“ ankstesnes infekcijas ir efektyviau kovoti su pakartotinėmis. CRISPR-Cas sistemos gamtoje pasižymi labai didele įvairove ir pagal savo baltyminę sudėtį yra suskirstytos į dvi klases ir šešis tipus, kurie toliau skirstomi į potipius. *Streptococcus thermophilus* yra mikroorganizmas svarbus pieno pramonėje ir jame pirmąkart buvo parodyta CRISPR-Cas sistemų funkcija. *S. thermophilus* yra įdomus modelinis organizmas, nes pasižymi CRISPR-Cas sistemų įvairove ir turi 4 skirtingas CRISPR-Cas sistemas. Mažiausiai ištirtinėta CRISPR-Cas veikimo mechanizmo dalis yra adaptacijos žingsnis – kaip bakterija ar archėja į

savo genomą įsistato viruso DNR fragmentą. Šiame darbe tyrėme I-E tipo CRISPR4-Cas sistemą iš *S. thermophilus*. Ji unikali tuo, kad adaptacijai reikalingas baltymas Cas2 yra sulietas su egzonukleaziniu DnaQ domenu. Mes parodėme, kad Cas1-Cas2 baltymai sudaro kompleksą kurio pakanka integracijai į plazmidę *in vitro* vykti. Integruojamas substratas yra 23nt dvigrandinės DNR fragmentas turintis 3' išsikišusius galus. Mes tyrėme kokią funkciją Cas1-Cas2 komplekse atlieka DnaQ domenas.

Oligomerinių baltymų ir jų imuninių kompleksų poveikio makrofagams tyrimas

Asta Lučiūnaitė¹, Indrė Dalgedienė¹, Aurelija Žvirblienė¹

¹VU Biotechnologijos institutas

Makrofagai atlieka svarbų vaidmenį apsaugant organizmą nuo įvairių patogenų. Jie šalina organizmui pavojingus junginius ir aktyvina kitas imuninės sistemos ląsteles. Makrofagų aktyvinimo potencialiai patogeniškais baltymais mechanizmas dažnai nėra žinomas. Vienas iš tokių pavyzdžių yra makrofagų/mikroglijos sąveika su β-amiloidais (Aβ) Alzheimerio ligos metu. Šio darbo tikslas buvo ištirti, kaip keičiasi makrofagų fenotipas, paveikus juos Aβ ir virusiniais oligomeriniais baltymais (rekombinantiniais tymų viruso, poliomos viruso ir metapneumoviruso antigenais) bei jų imuniniais kompleksais. Tyrimo modelis – pirminė pelės blužnies makrofagų kultūra. Uždegiminių makrofagų M1 ir priešuždegiminių makrofagų M2 žymenų raiška tirta tėkmės citometrijos ir imunoflorescencinės analizės metodais. Nustatyta, kad paveikus makrofagus Aβ oligomerais ir jų imuniniais kompleksais, susidaro M1 ir M2 fenotipo makrofagai. Paveikus makrofagus Aβ oligomerų imuniniais kompleksais, nustatyta didesnė IL-10 sekrecija lyginant su Aβ oligomerais. Didesnė IL-10, fagocitozę slopinančio veiksnio, sekrecija gali rodyti neigiamą imuninių kompleksų poveikį fagocituojamų oligomerų suskaidymo efektyvumui. Makrofagų aktyvinimas virusiniais oligomeriniais baltymais ir jų imuniniais kompleksais sukėlė M1 makrofagų susidarymą. Atsakas į aktyvinimą virusiniais antigenais buvo mažesnis palyginus su Aβ oligomerais. Apibendrinant, priklausomai nuo oligomerinių antigenų kilmės ir jų struktūros ypatybių šie baltymai ir jų imuniniai kompleksai gali skirtingai aktyvinti makrofagus ir skatinti tiek uždegiminius, tiek priešuždegiminius savybėmis pasižyminčių makrofagų susidarymą.

Pneumolizino antigeninės struktūros analizė ir kiekybinis nustatymas panaudojant monokloninius antikūnus

Martynas Simanavičius, Milda Plečkaitytė, Milda Zilnytė,

Aurelija Žvirblienė, Indrė Kučinskaitė-Kodžė

Vilniaus universiteto Biotechnologijos institutas

Pneumolizinas (PLY) yra pagrindinis *Streptococcus pneumoniae* virulentiškumo veiksnys, kuris atlieka svarbų vaidmenį pneumonijos, meningito ir sepsio patogenezėje. PLY pasižymi citoliziniu aktyvumu. Toksinas sudaro poras ląstelių membranose sukeldamas ląstelių lizę. Darbe tiriama PLY antigeninė struktūra, panaudojant persidengiančius baltymo fragmentus. Šiais fragmentais nustatomos MAK atpažįstamos PLY vietos (epitopai). Darbe aprašytas PLY kiekybinio nustatymo sistemos imunoflorescencinės analizės (IFA) pagrindu kūrimas. Bioinformatikos metodais identifikuoti keli PLY regionai kaip galimos MAK prisijungimo vietos. 8 persidengiantys

PLY fragmentai susintetinti *Escherichia coli* raiškos sistemoje. MAK reakcija su PLY fragmentais tirta imunoblotingo metodu. 7 iš 10 tirtų MAK atpažįsta 4 skirtingas imunodominuojančias sritis. Šie rezultatai papildė žinias apie PLY antigeninę struktūrą. MAK pora, atpažįstanti skirtingus epitopus, buvo pritaikyta PLY nustatymo sistemos dviepitopės IFA pagrindu kūrimui. Šis metodas optimizuotas ir patikrintas biologiniais pneumokoko mėginiais. Sistemos jautrumas yra 0,41 ng/ml PLY. Klinikiniai 5 skirtingų serotipų pneumokoko kamienai ištirti PLY nustatymo sistema. Citolizino koncentracija šių kamienų augimo terpėje buvo sėkmingai nustatyta. Tiriant nosiaryklės tepinėlių mėginius iš pacientų su kvėpavimo takų infekcijos simptomais (n = 50) nustatyta 4 iš 16 teigiamų mėginių PLY koncentracija kalibracinės kreivės ribose. Taigi PLY antigeninė struktūra ištirta MAK kolekcija. Nauja PLY kiekybinio nustatymo sistema yra tinkama tiriant patogeno *in vitro* sekretuojamo citolizino koncentraciją ir toksino nustatymui nosiaryklės tepinėlių mėginiuose.

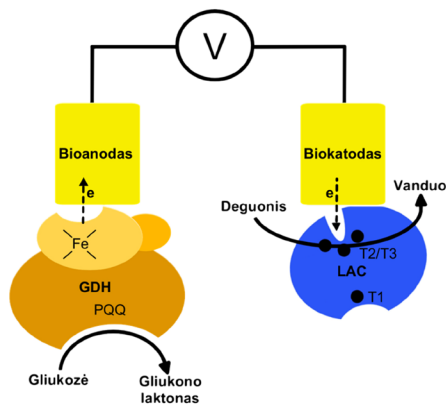
Aukšto efektyvumo fermentiniai elektrodai biokuro elementams

Dalius Ratautas, Juozas Kulys

Vilniaus Gedimino technikos universiteto Fundamentinių mokslų fakultetas

Fermentiniai biokuro elementai generuoja elektros srovę biologinėse terpėse katalizuodami įvairių junginių oksidaciją ir redukciją. Biokuro elementą sudaro fermentiniai elektrodai: bioanodas ir biokatodas. Prie biokatodo vyksta deguonies redukcija, o prie bioanodo – tikslinio substrato oksidacija. Pagrindinis tiek bioanodo tiek biokatodo komponentas yra paviršiuje imobilizuotas fermentas, katalizuojantis oksidacinį/redukcinį procesą.

Šiame darbe sukūrėme tiesioginės elektronų pernašos principu veikiančius didelio srovės tankio ir optimalaus redokso potencialo bioanodus su gliukozės dehidrogenaze iš *Ewingella americana* (GDH) ir biokatodus su lakaze iš *Didymocrea sp* (LAC). Bioanodai buvo sukurti imobilizuojant GDH ant aukso nanodalelių, modifikuotų tioliniais junginiais. Parodėme, kad GDH bioelektrokatalizę vykdė labai efektyviai: generuojami srovės tankiai siekė iki 10 mA cm⁻² ir baltymas buvo orientuotas hemu į paviršius. Jo katalizinė konstanta siekė 28 ± 5 s⁻¹ ir buvo palyginama su konstanta homogeninėje terpėje (36 ± 5 s⁻¹). Taip pat pademonstravome efektyvius biokatodus su lakaze, kurie generavo srovių tankius iki 1 mA cm⁻². Be to LAC buvo imobilizuota labai efektyviai – fermentas buvo orientuotas T2/T3 centru į paviršius ir veikė efektyviau negu homogeninėje terpėje.



Biokuro elemento sudaryto iš gliukozės dehidrogenazės bioanodo ir lakazės biokatodo principinė schema

Šis tyrimas padeda atverti kelią kurti didelės galios bioanodus ir biokatodus pritaikomus biokuro elementuose.

Tyrimų rezultatai publikuoti:

Ratautas, D., Marcinkevičienė, L., Meškys, R., & Kulys, J. (2015). *Electrochimica Acta*, 174, 940–944. Impact factor: 4.803

Ratautas, D., Laurynėnas, A., Dagys, M., Marcinkevičienė, L., Meškys, R., & Kulys, J. (2016). *Electrochimica Acta*, 199, 254–260. Impact factor: 4.803

M. Dagys*, A. Laurynėnas*, D. Ratautas*, J. Kulys, R. Vidžiūnaitė, M. Talaikis, G. Niaura, L. Marcinkevičienė, R. Meškys and S. Shleev, *Energy Environ. Sci.*, 2016, DOI: 10.1039/C6EE02232D. Impact factor: 25.427

*autorių indėlis į darbą yra vienodas

Autoriai dėkoja dr. R. Meškiui ir dr. L. Marcinkevičienei už tyrimams suteiktus fermentus.

Nanosekundžių trukmės elektrinio lauko impulsais sukeltos programuotos mielių *Saccharomyces cerevisiae* ląstelių žūtis tyrimas

Povilas Šimonis

Fizinių ir technologijos mokslų centras

Mielės *Saccharomyces cerevisiae* yra vienas iš labiausiai ištirtų eukariotinių mikroorganizmų. Jos plačiai naudojamos tiek maisto pramonėje, tiek laboratoriniuose tyrimuose kaip modelinis objektas. 1997 metais apoptotiniai žymenys buvo pirmą kartą aprašyti mielėse ir taip parodyta, jog apoptozė vyksta ne tik daugialąsčiuose organizmuose.

Programuotos ląstelės žūtis sukėlimui bei tyrimui buvo naudojama FTMC puslaidininkų fizikos skyriuje sukonstruota didelės galios, nanosekundžių trukmės, stačiakampio formos elektrinio lauko impulsus generuojanti sistema. Ląstelės buvo veikiamos nanosekundžių trukmės ($\tau = 10\text{--}90$ ns), elektrinio lauko ($E < 220$ kV/cm) impulsais (n = 1–5).

Parodyta, jog gyvybingų ląstelių bei kolonijas formuojančių vienetų kiekis mažėja didinant elektrinio lauko impulsų stiprį, trukmę bei impulsų kiekį. Žuvusių kolonijas formuojančių vienetų bei ląstelių su aktyviomis metakaspazėmis kiekio priklausomybė nuo elektrinio lauko parametrų pasižymi panašiais dėsningumais.

Oksidacinio streso indėlis į ląstelių žūtį buvo patikrintas į elektriniu lauku paveiktų mielių ląstelių suspensiją pridendant redukuoto L-glutationo. Tokiu būdu neutralizuotas silpno elektrinio lauko ($E = 25$ kV/cm) poveikis ląstelių gyvybingumui.

Padarytos išvados, jog nanosekundžių trukmės elektrinio lauko impulsai veikia mielių ląstelės ir sukelia oksidacinį stresą, kuris atitinkamai veda į programuotą ląstelės žūtį pasižyminčią būdingais žymenimis: fosfatidilserinu išorinėje lipidinio bisluoksnio pusėje, plazminės membranos pralaidumu propidžio jodidui bei aktyvuotomis mielių metakaspazėmis.

Nanodalelių susikaupimas ir pasiskirstymas 3D ląstelių kultūrose

Greta Jarockytė

Nacionalinio vėžio instituto Biomedicininės fizikos laboratorija

Sparčiai besivystant nanotechnologijoms vis didėja galimybės jas pritaikyti ir onkologijos srityje. Tam, kad nanodalelės būtų sėkmingai pritaikytos vėžinių susirgimų diagnostikoje bei gydyme, reikia ištirti nanodalelių sąveiką su biologinėmis struktūromis. Šiuo metu tokiuose

tyrimuose dažniausiai yra naudojami ląstelių monosluoksniai. Tačiau šis biologinis modelis yra per daug supaprastintas ir neatitinka sudėtingos vėžinio audinio struktūros bei naviko mikroaplinkos. Siekiant eksperimentines sistemas priartinti prie natūralių biologinių struktūrų, pradėtos auginti trimatės (3D) ląstelių kultūros. Tokiose ląstelių kultūrose dominuoja ląstelė–ląstelė sąveika, taip pat formuojasi tarpląstelinis matiksas ir susidaro difuzinis maisto medžiagų bei deguonies gradientas. Tokiomis pačiomis savybėmis pasižymi ir maži navikai, dar neturintys kraujagyslių tinklo. Visa tai suteikia pranašumą 3D ląstelių kultūroms onkologiniuose tyrimuose prieš šiuo metu įprastus ląstelių monosluoksnius.

Šio darbo tikslas buvo ištirti kvantinių taškų kaupimosi ir pasiskirstymo dėsningumus 3D ląstelių kultūrose, imituojančiuose avaskulinius navikus.

Darbo metu buvo naudojama NIH3T3 ląstelių liniją. 3D ląstelių kultūros augintos kabančio lašo metodu. Kaip nanodalelių modelis buvo pasirinkti CdSe/ZnS karboksilo grupėmis dengti kvantiniai taškai (KT). KT susikaupimas ląstelių sferoiduose buvo stebimas konfokaliniu mikroskopu.

Darbo metu buvo nustatyta, kad KT sukaupimas ląstelių sferoiduose yra nehomogeniškas, KT negali laisvai judėti sferoido viduje: nanodalelės prasiskverbia į 3–4 ląstelių gylį ir nepatenka į centrinę struktūros dalį. KT į ląstelės patenka endocitozės būdu ir susikaupia endocitinėse pūslelėse aplink ląstelės branduolį.

Šis darbas dalinai buvo finansuotas jungtinės Lietuvos–Latvijos–Taivano trišalės kooperacijos programos dotacijos Nr. TAP-LLT-13-016. Darbo vadovai Vitalijus Karabanovas ir Ričardas Rotomskis.