

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0075****Perspektívy použitia ventilátora AURA V (Chirana, SR) v liečbe experimentálnych modelov respiračného zlyhávania novorodencov**Zodpovedný riešiteľ **doc. MUDr. Daniela Mokrá, PhD.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Univerzita Komenského v Bratislave
Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Na tomto projekte nespupracovalo zahraničné pracovisko.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Patenty, vynálezy ani úžitkové vzory neboli výsledkami projektu.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Kapitoly vo vedeckých monografiách vydané v zahraničných vydavateľstvách v rozsahu min. 2 AH:

Mokra D. Animal models of respiratory distress in neonates. In: Berhardt LV (ed.) Advances in Medicine and Biology. Vol. 118. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2017, p. 123-159.

ISSN 2157-5398. - ISBN 978-1-53611-014-2 [2,3 AH]

https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=61247&osCsid=cff6d33319f2cbc365e99d6ca30ce8c3Mokrá D, Mokry J. Oxidative Stress in Experimental Models of Acute Lung Injury. In: Chakraborti S, Parinandi NL, Ghosh, Ganguly NK, Chakraborti T (Editors): Oxidative Stress in Lung Diseases, Vol. 2, 1. vyd. ISBN 978-981-329-366-3. - Singapur : Springer Nature, 2020. - S. 25-57 [2 AH] (eBook) <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9366-3>

Vysokoškolské skriptá v rozsahu 3 AH:

Mokrá D, Mokry J. Syndróm akútnej respiračnej tiesne (ARDS): aktuálne trendy v diagnostike. Vysokoškolské skriptá. Martin : JLF UK - Portál MEFANET, 2020, 1. vyd., [3 AH]. Zverejnené na: <https://portal.jfmed.uniba.sk>. ISBN 978-80-8187-089-7. EAN 9788081870897.

Publikácie v zahraničných karentovaných časopisoch:

Mokra D, Calkovska A. Experimental models of acute lung injury in the newborns. Physiol. Res. 66 (Suppl. 2): S187-S201, 2017.

http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S187.pdf

Mokra D, Mokry J, Matasova K. Phosphodiesterase inhibitors: Potential role in the respiratory distress of neonates. Pediatr Pulmonol. 2018 Sep;53(9):1318-1325. doi: 10.1002/ppul.24082.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29905405>
Kopincova J, Mikolka P, Kolomaznik M, Kosutova P, Calkovska A, Mokra D. Modified porcine surfactant enriched by recombinant human superoxide dismutase for experimental meconium aspiration syndrome. *Life Sci.* 2018 Jun 15;203:121-128. doi: 10.1016/j.lfs.2018.04.036.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29684443>
Mikolka P, Kopincova J, Kosutova P, Kolomaznik M, Calkovska A, Mokra D. Anti-IL-8 antibody potentiates the effect of exogenous surfactant in respiratory failure caused by meconium aspiration. *Exp Lung Res.* 2018 Feb;44(1):40-50. doi: 10.1080/01902148.2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29324051>
Kosutova P, Mikolka P, Kolomaznik M, Balentova S, Adamkov M, Calkovska A, Mokra D. Reduction of lung inflammation, oxidative stress and apoptosis by the PDE4 inhibitor roflumilast in experimental model of acute lung injury. *Physiol Res.* 2018 Dec 31;67(Supplementum 4):S645-S654. PMID: 30607971.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30607971>
Kosutova P, Mikolka P, Balentova S, Kolomaznik M, Adamkov M, Mokry J, Calkovska A, Mokra D. Effects of phosphodiesterase 5 inhibitor sildenafil on the respiratory parameters, inflammation and apoptosis in a saline lavage-induced model of acute lung injury. *J Physiol Pharmacol.* 2018 Oct;69(5):815-826. doi: 10.26402/jpp.2018.5.15.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30683832>
Zila I, Mokra D, Kopincova J, Kolomaznik M, Javorka M, Calkovska A. Vagal-immune interactions involved in cholinergic anti-inflammatory pathway. *Physiol. Res.* 66 (Suppl. 2): S139-S145, 2017.
http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S139.pdf
Kolomaznik M, Nova Z, Calkovska A. Pulmonary surfactant and bacterial lipopolysaccharide: the interaction and its functional consequences. *Physiol. Res.* 66 (Suppl. 2): S147-S157, 2017. http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S147.pdf
Antosova M, Mokra D, Pepucha L, Plevkova J, Buday T, Sterusky M, Bencova A. Physiology of nitric oxide in the respiratory system. *Physiol. Res.* 66 (Suppl. 2): S159-S172, 2017. http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S159.pdf
Kopincova J, Mikolka P, Kolomaznik M, Kosutova P, Calkovska A, Mokra D. Selective inhibition of NF- κ B and surfactant therapy in experimental meconium-induced lung injury. *Physiol. Res.* 66 (Suppl. 2): S227-S236, 2017.
http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S227.pdf
Kosutova P, Mikolka P, Kolomaznik M, Rezakova S, Calkovska A, Mokra D. Effects of roflumilast, a phosphodiesterase-4 inhibitor, on the lung functions in a saline lavage-induced model of acute lung injury. *Physiol. Res.* 66 (Suppl. 2): S237-S245, 2017.
http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/2017/66_S237.pdf
Mokra D, Mikolka P, Kosutova P, Mokry J. Corticosteroids in Acute Lung Injury: The Dilemma Continues. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 25;20(19). pii: E4765. doi: 10.3390/ijms20194765. PMID: 31557974. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6801694/>
Kopincova J, Kolomaznik M, Mikolka P, Kosutova P, Topercerova J, Matasova K Jr, Calkovska A, Mokra D. Recombinant Human Superoxide Dismutase and N-Acetylcysteine Addition to Exogenous Surfactant in the Treatment of Meconium Aspiration Syndrome. *Molecules.* 2019 Mar 5;24(5). pii: E905. doi: 10.3390/molecules24050905. PMID: 30841517. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6429363/>
Calkovska A, Mokra D, Calkovsky V, Matasova K, Zibolen M. Clinical considerations when treating neonatal aspiration syndromes. *Expert Rev Respir Med.* 2019 Feb;13(2):193-203. doi: 10.1080/17476348.2019.1562340. PMID: 30571925.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17476348.2019.1562340>
Nova Z, Skovierova H, Calkovska A. Alveolar-Capillary Membrane-Related Pulmonary Cells as a Target in Endotoxin-Induced Acute Lung Injury. *Int J Mol Sci.* 2019 Feb 15;20(4). pii: E831. doi: 10.3390/ijms20040831. PMID: 30769918.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6412348/>
Kosutova P, Mikolka P, Balentova S, Adamkov M, Mokra D. Effects of Nitric Oxide Donor on the Lung Functions in a Saline Lavage Induced Model of ARDS. *Physiol Res* 68 (Suppl 3): S265-S273, 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31928044>
Mikolka P, Kosutova P, Kolomaznik M, Topercerova J, Kopincova J, Calkovska A, Mokra D. Effect of Different Dosages of Dexamethasone Therapy on Lung Function and Inflammation in an Early Phase of Acute Respiratory Distress Syndrome Model. *Physiol Res* 68 (Suppl. 3):

S253-S263, 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31928043>
Topercerova J, Kolomaznik M, Kopincova J, Nova Z, Urbanova A, Mokra D, Mokry J, Calkovska A. The effect of pulmonary surfactant on the airway smooth muscle after lipopolysaccharide exposure and its mechanisms. *Physiol Res*. 2019;68 (Suppl 3):S275-S285. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31928045>
Kosutova P, Mikolka P, Balentova S, Adamkov M, Calkovska A, Mokra D. Effects of PDE3 Inhibitor Olprinone on the Respiratory Parameters, Inflammation, and Apoptosis in an Experimental Model of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020 May 11;21(9):3382. doi: 10.3390/ijms21093382. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32403267/>
Kolomaznik M, Kopincova J, Nova Z, Topercerova J, Zila I, Mikolka P, Kosutova P, Matasova K Jr, Skovierova H, Grendar M, Mokra D, Calkovska A. The Effect of Modified Porcine Surfactant Alone or in Combination with Polymyxin B on Lung Homeostasis in LPS-Challenged and Mechanically Ventilated Adult Rats. *Molecules*. 2020 Sep 23;25(19):E4356. doi: 10.3390/molecules25194356. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32977392/>
Mokrá D. Acute lung injury – from pathophysiology to treatment. *Physiol Res* 2020: 69 (Suppl 3): xxx (v tlači, vyjde do konca decembra 2020)
Mikolka P, Kosutova P, Balentova S, Cierny D, Kopincova J, Kolomaznik M, Adamkov M, Calkovska A, Mokra D. Early cardiac injury in acute respiratory distress syndrome: comparison of two experimental models. *Physiol Res* 2020: 69 (Suppl 3): xxx (v tlači, vyjde do konca decembra 2020)
Pozvaná Antalova prednáška na 96. Česko-slovenských Fyziologických dňoch 2020: Mokrá D: „Akútne poškodenie pľúc – od patofyziológie k liečbe“

Uplatnenie výsledkov projektu

Z dôvodu výrazného zlepšenia perinatálnej starostlivosti a následného zvýšenia počtu predčasne narodených novorodencov sa zvyšuje tlak na výrobcov ventilátorov, ale aj na výskumníkov, aby sa rozšírili možnosti použitia a optimalizácie rôznych ventilačných režimov, ktoré zabezpečia primeranú výmenu dýchacích plynov a zároveň budú šetrné k pľúciam novorodencov.

Primárnym cieľom projektu bolo zistiť, či je neonatologický ventilátor Aura V od slovenského výrobcu Chirana, Stará Turá svojimi technickými parametrami porovnateľný s inými neonatologickými ventilátormi od zahraničných výrobcov. Merania na experimentálnych modeloch respiračného zlyhávania novorodencov (syndrómu respiračnej tiesne nedonosených/syndrómu akútnej respiračnej tiesne, RDS/ARDS a syndrómu aspirácie mekónia, MAS) dokázali, že efektivita ventilátora Aura V je počas aplikácie SV-CMV ventilačného režimu plne porovnateľná s inými ventilátormi, vďaka čomu by sa mohlo jeho použitie v budúcnosti rozšíriť aj do skupiny novorodeneckých pacientov. Okrem toho sme na modeloch RDS/ARDS a MAS testovali nové a veľmi sľubné, ale doteraz málo známe ventilačné postupy (viacúrovňovú ventiláciu a kombinovanú ventiláciu pomocou vysokofrekvenčnej oscilačnej ventilácie a konvenčnej mechanickej ventilácie), ktoré by mohli byť užitočné aj pre ventiláciu novorodeneckých pacientov s respiračným zlyhávaním. Riešenie projektu prinieslo viaceré nové poznatky o neštandardných možnostiach ventilácie, ale aj o nežiaducom vplyve primárneho poškodenia pľúc na iné orgány (srdce, pečeň, obličky), čo by mohlo v budúcnosti viesť k zlepšeniu prežívania pacientov s RDS/ARDS a MAS a tiež k minimalizácii možných následkov akútneho poškodenia pľúc ako aj použitia rôznych druhov ventilačnej liečby.

Očakávame, že výrobca ventilátora Aura V Chirana s.r.o. v krátkom čase využije výsledky nášho projektu a naše skúsenosti s ventiláciou experimentálnych modelov RDS/ARDS a MAS a použije ich pre zavedenie inovácií a zlepšení na základe našich poznatkov, čo môže významnou mierou prispieť ku skvalitneniu technických parametrov prístroja. Naše poznatky z oblasti testovania nových spôsobov ventilácie môžu byť prínosom aj pre iných výskumných a klinických pracovníkov, nakoľko prinášajú nové informácie o neštandardných možnostiach ventilácie, ktoré môžu byť uplatnené nielen pri ventilácii novorodeneckých, ale aj dospelých pacientov s akútnym poškodením pľúc.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

- Efektivita ventilácie pomocou ventilátora Aura V je počas nízkoobjemovej konvenčnej mechanickej ventilácie (SV-CMV) plne porovnateľná s SV-CMV režimom ventilátora SLE5000, čo sme potvrdili nálezom podobných hodnôt nielen ventilačných parametrov a indexov oxygenácie a výmeny plynov, ale aj podobnými koncentraciami markerov zápalu, oxidačného stresu, tvorby pľúcneho edému či poškodenia pľúcneho tkaniva. Okrem toho má ventilátor Aura V nižšiu spotrebu kyslíka pri SV-CMV režime ako iné ventilátory.

- Pri porovnaní s ďalšími ventilačnými režimami, ktoré používajú malé dychové objemy, t.j. vysokofrekvenčnou oscilačnou ventiláciou (VFOV) a vysokofrekvenčnou tryskovou ventiláciou (VFTV) sme zistili, že v dôsledku vyššej minútovej ventilácie pri vyšších frekvenciách ventilácie (f. 600/min pri VFOV a f. 150/min. pri VFTV) dochádza k dodatočnému miernemu zlepšeniu oxygenácie (najmä pri VFOV ventilácii) a tiež ku zvýšenej eliminácii CO₂ (najmä pri VFTV ventilácii) v porovnaní s CMV režimom.

- V modeli MAS s heterogénnym poškodením pľúc viedla viacúrovňová (MLV) ventilácia v porovnaní s jednoúrovňovou CMV ventiláciou pri porovnateľných hodnotách pH a PaCO₂ v arteriálnej krvi k miernemu zlepšeniu oxygenácie, k zníženiu celkového počtu buniek a % neutrofilov v BAL tekutine, redukcii tvorby pľúcneho edému ako aj zníženiu koncentrácií niektorých markerov zápalu a oxidačného stresu. Naopak, v modeli RDS/ARDS s homogénnejším poškodením pľúc sa použitie MLV ventilácie ukázalo ako nevhodné, keďže nezlepšilo alebo dokonca zhoršilo parametre výmeny dýchacích plynov a zvýšilo riziko vzniku pneumotoraxu. Rozdielne výsledky pre použitie MLV ventilácie v modeloch RDS/ARDS a MAS pravdepodobne súvisia s odlišnými charakteristikami poškodenia pľúc pri týchto modeloch. Použitie viacúrovňových režimov by pri heterogénnom poškodení pľúc mohlo zlepšiť distribúciu plynov do jednotlivých regiónov pľúc s rozdielnymi vlastnosťami a rôznym stupňom poškodenia tkaniva. Ventilácia na viacerých hladinách tlaku pri MLV ventilácii by tak mohla zlepšiť distribúciu plynov do pomalých bronchoalveolárnych kompartmentov bez rizikovej zmeny objemového zaťaženia rýchlych kompartmentov.

- Kombinovaný VFOV+CMV režim ventilátora SLE5000 sme testovali na modeli MAS s nehomogénnym poškodením pľúc, kde sme predpokladali výraznejšie pozitívne efekty kombinovanej ventilačnej liečby. Pri porovnaní 3 rôznych nastavení VFOV+CMV režimu (1.skupina: frekvencia CMV 4/min., frekvencia VFOV 8 Hz, 2. skupina: frekvencia CMV 30/min., frekvencia VFOV 10 Hz a 3. skupina: frekvencia CMV 50/min., frekvencia VFOV 10 Hz) sme zistili najvýraznejšie zlepšenie respiračných, ale aj zápalových parametrov v 1. skupine. Následné pilotné experimenty ukázali, že vďaka zlepšeniu respiračných parametrov pri tomto type ventilácie je možné zabezpečiť dostatočnú výmenu plynov aj pri použití len 35% koncentrácie kyslíka, čím je možné redukovat' poškodenie tkanív kyslíkom.

- Na overenie hypotézy, že aj pri CMV ventilácii je možné vytvoriť asymetrický profil prietoku ventilácie, ktorý môže uľahčiť podávanie látok (tzv. impulzný efekt) alebo zlepšiť ich odstraňovanie (tzv. expulzný efekt), sme použili zdravé zvieratá a zvieratá s modelom RDS/ARDS a modelom MAS. Efektivitu distribúcie podanej látky resp. jej odstraňovanie sme hodnotili pomocou planimetrickeho a spektrofotometrickeho merania distribúcie zeleného histologickeho farbiva a impulzný efekt aj pomocou zobrazovania magnetickou rezonanciou (MRI) s viacerými kontrastnými látkami. Kým impulzný režim mierne, ale nesignifikantne zvýšil množstvo diagnostických médií v pľúcach a zlepšil homogenitu distribúcie v jednotlivých segmentoch pľúc, vyššiu efektivitu expulzného režimu v porovnaní s neutrálnym režimom sa nám nepodarilo dokázať. Pri oboch modeloch poškodenia pľúc sa mierne zhoršila distribúcia podanej látky (impulzný režim) resp. jej odstraňovanie (expulzný efekt) v porovnaní so zdravými kontrolami.

- Pripravili sme spoľahlivú metodiku na hodnotenie priestorovej distribúcie umelo vháňaných kontrastných látok do pľúc pomocou MRI, pri ktorej sa pľúca štandardne nevyšetrujú, nakoľko sú pre vysoký obsah vzduchu touto vyšetrovacou metódou ťažko zobraziteľné. Metodika, ktorú sme pripravili a testovali v našich experimentoch, by tak mohla v budúcnosti predstavovať ďalšiu potenciálnu možnosť pre hodnotenie distribúcie liečiv v pľúcach, ktorá by mohla nájsť aj širšie laboratórne či klinické uplatnenie.

- Akútne poškodenie pľúc, ktoré sme vyvolali u experimentálnych zvierat, viedlo v priebehu niekoľkých hodín k indukcii systémového zápalu, oxidačného stresu a detekovateľným zmenám hladín markerov poškodenia tkaniva iných orgánov (srdca, pečene, obličiek).

- Podávanie 100% kyslíka zdravým zvieratám viedlo už po 4 hodinách k zvýšeniu koncentrácií hladín prozápalových mediátorov, markerov oxidačného stresu a apoptózy v krvi, ale aj v iných orgánoch (srdce, pečeň, obličky).

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

- Effectivity of ventilation by ventilator Aura V during small-volume conventional mechanical ventilation (SV-CMV) was fully comparable with SV-CMV regime of ventilator SLE5000 what was confirmed by similar values of ventilatory parameters, indexes of oxygenation and gas exchange but also by comparable concentrations of markers of inflammation, oxidative stress, lung edema formation or lung tissue injury. In addition, consumption of oxygen in SV-CMV regime by ventilator Aura V was lower than by other ventilators.
- Comparison with other ventilation regimes using small volumes, such as high-frequency oscillatory ventilation (HFOV) or high-frequency jet ventilation (HFJV) revealed that due to higher minute ventilation in higher frequencies of ventilation (f. 600/min in HFOV and f. 150/min. in HFJV), the additional improvement in oxygenation (particularly in HFOV ventilation) and more intensive elimination of CO₂ (mainly in HFJV ventilation) in comparison with CMV regime can be found.
- In model of MAS with heterogenous lung injury, multi-level (MLV) ventilation in comparison to one-level CMV ventilation led in comparable values of pH and PaCO₂ in arterial blood to slight improvement of oxygenation, to decrease of total number of cells and % of neutrophils in BAL fluid, to reduction of lung edema formation and to decrease in concentrations of several markers of inflammation and oxidative stress. However, in RDS/ARDS model with more homogenous lung injury the use of MLV ventilation was unsuitable, while it did not improve or even worsened the parameters of gas exchange and increased the risk of pneumothorax. Different results from the use of MLV ventilation in RDS/ARDS and MAS models are likely caused by different characteristics of the lung injury in these models. The use of MLV ventilation in heterogenous lung injury could enhance the gas distribution into the individual lung regions characterized by different properties and various extent of the tissue damage. Ventilation on several levels of pressure in MLV ventilation could improve the gas distribution into the slow bronchoalveolar compartments without the risk of volume overload in the rapid compartments.
- Combined HFOV+CMV regime of ventilator SLE5000 was tested on MAS model with nonhomogenous lung injury where we expected more obvious positive effects of the combined ventilation. In comparison of 3 various settings of HFOV+CMV regime (1st group: frequency CMV 4/min., f. HFOV 8 Hz, 2nd group: f. CMV 30/min., f. HFOV 10 Hz and 3rd group: f. CMV 50/min., f. HFOV 10 Hz) the most significant improvement in respiratory and inflammatory parameters was observed in the 1st group. Subsequent pilot experiments showed that thanks to enhanced respiratory parameters, this combination is able to supply adequate gas exchange even in 35% oxygen concentration, what might reduce the injury of tissues by oxygen.
- To evaluate the hypothesis that also in CMV ventilation the asymmetric profile of the gas flow can be elicited what can enhance delivery of substances into the lung (so-called inpulsion effect) or to improve its removal (i.e. expulsion effect) we have used healthy animals as well as animals with RDS/ARDS and MAS models. Effectivity of distribution of delivered substance or its removal was evaluated by planimetric and spectrophotometric measurement of distribution of histological green dye and inpulsion effect was also evaluated by magnetic resonance imaging (MRI) with several contrast substances. While the inpulsion regime was able to enhance slightly, but nonsignificantly the amount of diagnostic media in the lung and improve slightly the homogeneity of distribution in the individual lung segments, we were not able to demonstrate higher effectivity of expulsion regime compared to neutral regime. In both lung injury models, the distribution (inpulsion regime) and the removal (expulsion regime) have worsened in comparison to healthy controls.
- We have prepared the reliable methods for evaluation of space distribution of artificially delivered contrast substances into the lung using MRI by which the lung is standardly not investigated because the lung is hardly visible due to high amount of air present in the lung tissue. The methods which was prepared and tested in our experiments could in future represent an other alternative for evaluation of distribution of drugs throughout the lung, with more wide laboratory and clinical use.
- Acute lung injury evoked in experimental animals led within several hours to induction of systemic inflammation, oxidative stress and detectable changes in markers of injury of other

organs (heart, liver, kidneys).

- Inhalation of 100% oxygen by healthy animals caused within 4 hours an increase in concentrations of proinflammatory mediators, markers of oxidative stress and apoptosis in the blood but also in other organs (heart, liver, kidneys).