



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0250**

Pľúcny surfaktant ako modulátor odpovede organizmu na expozíciu endotoxínu: efekty a mechanizmy

Zodpovedný riešiteľ **prof. MUDr. Andrea Čalkovská, DrSc.**

Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav fyziológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského v Martine
Katedra fyzikálnej chémie liečiv, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Laboratory for Surfactant Research, Karolinska Institut/Karolinska Hospital, Štokholm, Švédsko
Health Sciences Centre, University of Calgary, Kanada
Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugalsko
Alba synchrotron, Barcelona, Španielsko
ILL - Institut Laue- Langevin, Grenoble, Francúzsko
Laboratoire Leon Brillouin (LLB) CEA, Saclay, Francúzsko

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

N/A

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

- 1) ADC Calkovska A, Mokra D, Calkovsky V, Matasova K, Zibolen M. Clinical considerations when treating neonatal aspiration syndromes. Expert Rev Respir Med 2019; 13(2):193-203. doi: 10.1080/17476348.2019.1562340, IF JCR: 2018 – 2.622
- 2) ADC 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; 20(4): 831 (s. 1 – 20). IF JCR: 2018 - 4.183
- 3) ADC 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, doi: <https://doi.org/10.33549/physiolres.934410>; IF JCR: 2018 – 1.701
- 4) ADC Liskayová G, Hubčík L, Búcsi A, Fazekas T, Martínez JC, Devínsky F, Pisárčík M, Hanulová M, Ritz S, Uhríková D. pH-sensitive N,N-Dimethylalkane-1-amine N-Oxides in DNA delivery: from structure to transfection efficiency. Langmuir 2019; 35: 13382-13395; IF JCR: 2018 – 3.683
- 5) ADC Nova Z, Skovierova H, Strnadel J, Halasova E, Calkovska A. Short-term versus long term culture of A549 cells for evaluating the effects of lipopolysaccharide on oxidative

- stress, surfactant proteins and cathelicidin LL-37. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 1148. IF JCR 2019 = 4,556 <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/1148>
- 6) ADC 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; 25(19): 4356 (17 s). IF JCR 2019 = 3,267 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7582504/>
- 7) ADC Pedan H, Janosova V, Hajtman A, Calkovsky V. Non-reflex defence mechanisms of upper airways mucosa: possible clinical application. *Physiol Res* 2020; 69 (Suppl.1): S55-S67 IF JCR 2019 = 1,655 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32228012/>
- 8) ADC Kolomaznik M, Mikolka P, Hanusrichterova J, Kosutova P, Matasova K, Jr., Mokra D, Calkovska A. N-acetylcysteine in mechanically ventilated rats with lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome: The effect of intravenous dose on oxidative damage and inflammation. *Biomedicines* 2021; 9(12), 1885, p. 1-13 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34944701/>
- 9) ADC Calkovska A, Kolomaznik M, Calkovsky V. Alveolar type II cells and pulmonary surfactant in COVID-19 Era. *Physiol Res* 2021; 70(Suppl. 2): S195-S208. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34913352/>
- 10) ADC Calkovska A, Haegerstrand-Björkman M, Curstedt T. Restoration of surfactant activity by polymyxin B in lipopolysaccharide-potentiated injury of immature rabbit lungs. *Sci Rep* 2021; 11(1): 22-30. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33420141/>
- 11) ADC Kučerka N, Ermakova E, Dushanov E, Kholmurodov KT, Kurakin S, Želinská K, Uhríková D. Cation – zwitterionic lipid interactions are affected by the lateral area per lipid, *Langmuir* 37 (2021) 278-288 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33356308/>
- 12) ADC Klacsová M., Bóta A., Westh P., Funari S.S., Uhríková D., Balgavý P.: Thermodynamic and structural study of DMPC-alkanol systems. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 23 (2021) 8598 – 8606 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33876021/>
- 13) ADC Královič- Kanjaková N., Hubčík L., Búcsi A., Klacsová M., Combet S., Teixeira J., Martínez J.C., Uhríková D.: Calcium mediated DNA binding in non-lamellar structures formed by DOPG/glycerol monooleate. *Chem. Phys. Lipids* 239 (2021) 105118: 1 – 12 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34280362/>
- 14) ADC (V3) Klacsová M, Čelková A, Búcsi A, Martínez JC, Uhríková D. Interaction of GC376, a SARS-CoV-2 Mpro inhibitor, with model lipid membrane. *Coll, Surf. B: Biointerfaces* 220 (2022) 112918 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776522006026>
- 15) ADC (V3) Kurakin S, Ivankov O, Skoi V, Uhríková D, Kučerka N. Cations do not alter the membrane structure of POPC – a lipid with an intermediate area. *Front. Mol. Biosci* 9 (2022) 926591 <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000830994300001>
- 16) ADC (V3) Kolomaznik et al. Effect of N-acetylcysteine combined with exogenous surfactant in double-hit model of lung injury in rats. *Respir Physiol Neurobiol* 2023, v tlači
- 17) ADC (V3) Zila et al. Heart rate variability in rats subjected to LPS-induced lung injury. *Respir Physiol Neurobiol* 2023, v tlači

Uplatnenie výsledkov projektu

Stavy spojené s inaktiváciou endogénneho surfaktantu ako akútny syndróm respiračnej tiesne (ARDS)/akútne poškodenie pľúc (ALI), majú výraznú zápalovú zložku a sú spojené s vysokou morbiditou a mortalitou. Lepšie pochopenie patofyziologických mechanizmov a včasná terapia ARDS môžu zlepšiť prežívanie pacientov so závažným poškodením pľúc, pričom výsledky projektu môžu slúžiť ako podklad k plánovaniu ďalších predklinických a klinických štúdií, posudzujúcich vplyv liečby na ťažké poškodenie pľúc. Použitie kriticky chorých zvierat na umelej pľúcnej ventilácii ako aj dvojité poškodenie pľúc (hyperoxia a lipopolysacharid) sú modely, ktoré sa využívajú málo, pričom sa viac približujú multifaktoriálnej príčine ARDS u pacientov. Vedecký prínos projektu spočíva v originálnych výsledkoch získaných v experimentoch na zvieratách, tkanivách, bunkách a fyzikálno-experimentálnymi štúdiami. Spoločenský prínos je aj v zapojení mladých vedeckých pracovníkov, doktorandov, diplomantov, ako aj pregraduálnych študentov v rámci ŠVOČ.

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

Projekt sa venoval vplyvu bakteriálneho lipopolysacharidu (LPS) na respiračný systém, jeho interakcii so surfaktantom a novým možnostiam liečby akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS). Použilo sa široké spektrum vedeckých metód, a to v rámci spolupráce domácich a zahraničných pracovísk, čo umožnilo vytvoriť pomerne celistvý obraz o študovanej problematike. Medzi najdôležitejšie výsledky patrí využitie klinicky relevantných modelov na zvieratách, ktoré umožnili testovať a potvrdili vhodnosť terapie exogénnym surfaktantom, overili kombinácie s inými látkami (N-acetyl cysteín, NAC; polymyxín B, PxB) a upozornili na riziká. Získali sa originálne výsledky týkajúce sa vplyvu LPS na bunky alveolo-kapilárnej membrány. Ako sa ukázalo, dlhodobá kultivácia A549 buniek viac podporuje fenotyp ATII buniek a zdá sa byť vhodnejším modelom ATII buniek, najmä pre štúdie týkajúce sa tvorby surfaktantu. Štúdie zamerané na relaxačný vplyv surfaktantu na hladký sval dýchacích ciest potvrdili zapojenie leukotriénových a histamínových receptorov v tomto procese. Metóda atómovej silovej mikroskopie (AFM) je vhodnou alternatívou k metóde orgánových kúpeľov. Meranie tuhosti buniek hladkého svalu dýchacích ciest pomocou AFM naznačuje, že EP4 receptor pre relaxačný prostaglandín PGE2 môže byť zapojený do mechanizmu relaxácie hladkého svalu dýchacích ciest surfaktantom prostredníctvom interakcie surfaktantu s epitelom dýchacích ciest. Fyzikálno-chemické štúdie zároveň monitorovali vzájomné interakcie exogénneho surfaktantu s ďalšími liečivami a biologicky významnými molekulami (NAC, PxB, katelicidín LL-37, SP-B proteín). Cieľom bolo objasnenie interakcií na molekulovej úrovni pre potenciálne využitie exogénneho surfaktantu ako nosiča liečiv pri intratracheálnom podaní. Boli študované aj interakcie exogénneho surfaktantu exponovaného LPS s vybranými liečivami (PxB, NAC). Fyzikálno-chemické štúdie naznačujú možný liečebný benefit pri obohatení exogénneho surfaktantu nízkym obsahom PxB pri intratracheálnom podaní pri infekcii vyvolanej LPS. NAC neovplyvňuje surfaktant nežiadúcim spôsobom, neindukuje významné štruktúrne zmeny. Z fyzikálno-chemického hľadiska má NAC pri nízkom obsahu (< 20 hm%) stabilizačný efekt na štruktúru surfaktantu vo fluidnom stave.

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

The project focused on the effect of bacterial lipopolysaccharide (LPS) on the respiratory system, its interaction with lung surfactant and new treatment options for acute respiratory distress syndrome (ARDS). A wide range of methods was used, in the framework of the cooperating domestic and foreign workplaces. This made it possible to create a relatively comprehensive picture of the studied issue. The most important results include the use of clinically relevant animal models to test and confirm the suitability of exogenous surfactant therapy, verified combinations with other substances (N-acetyl cysteine, NAC; polymyxin B, PxB) and pointed out the risks. Original results were obtained regarding the effect of LPS on cells of the alveolo-capillary membrane. The results support the idea that long-term cultivation of A549 cells could promote a more ATII-like phenotype and thus could be a more suitable model for ATII cells, especially for studies dealing with surfactant production. The studies focused on the relaxing effect of surfactant on the airway smooth muscle confirmed the involvement of leukotriene and histamine receptors. The atomic force microscopy (AFM) is a suitable alternative to organ bath method. AFM measurement of airway smooth muscle cells revealed that the EP4 receptor for the relaxing prostaglandin PGE2 may be involved in the mechanism of airway smooth muscle relaxation by surfactant through the interaction of the surfactant with the airway epithelium. At the same time, physical-chemical studies monitored mutual interactions of exogenous surfactant with other drugs and biologically significant molecules (NAC, PxB, cathelicidin LL-37, SP-B protein). The aim was to clarify the interactions at the molecular level for the potential use of exogenous surfactant as a drug carrier for intratracheal administration. Interactions of exogenous surfactant exposed to LPS with selected drugs (PxB, NAC) were also studied. Physical-chemical studies suggest a possible therapeutic benefit of enriching exogenous surfactant with low PxB content when administered intratracheally in LPS-induced lung damage. NAC does not affect surfactant in an undesirable way, it does not induce significant structural changes. From a physical-chemical point of view, NAC has a stabilizing effect on the structure of surfactant in the fluid state at a low content (< 20 wt%).

