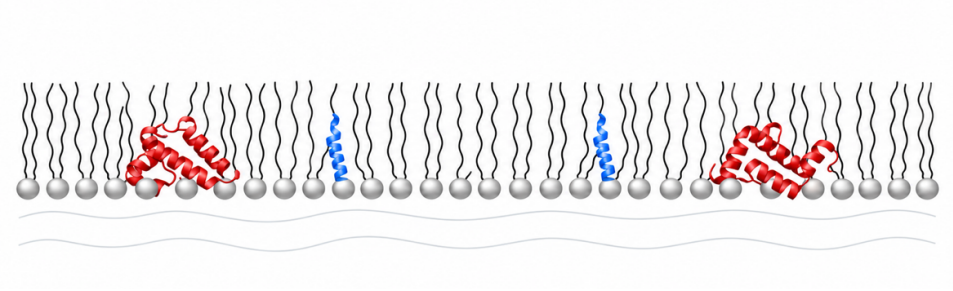
UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
JESSENIOVA LEKÁRSKA FAKULTA V MARTINE

PĽÚCNY SURFAKTANT: FYZIOLÓGIA, MOLEKULÁRNE MECHANIZMY, TERAPIA A EXPERIMENTÁLNY VÝSKUM

PAVOL MIKOLKA, MICHAELA MIKOLKOVÁ



MARTIN 2026

Pľúcny surfaktant: fyziológia, molekulárne mechanizmy, terapia a experimentálny výskum
Vysokoškolské skriptá

Autorský kolektív:
RNDr. Pavol Mikolka, PhD. Ústav fyziológie, JLF UK v Martine
MUDr. Michaela Mikolková Klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny, UNM

Recenzenti:
prof. MUDr. Jana Plevková, PhD. Centrum podpory medicínskeho vzdelávania, JLF UK v Martine
doc. MUDr. Milan Minárik, PhD. Katedra urgentnej zdravotnej starostlivosti, FZ KU v Ružomberku

Vydanie: prvé
Počet strán: 145

Text neprešiel jazykovou korektúrou, za odbornú a jazykovú stránku zodpovedajú autori.
Zverejnené na http://portal.jfmed.uniba.sk

ISBN 978-80-8187-190-0
EAN 9788081871900

Podporené grantovým projektom VEGA: 1/0026/25

Táto publikácia vznikla vďaka podpore projektu: „Simulačné centrum Jesseniovej lekárskej fakulty UK v Martine“, kód projektu: 401101B754. Tento projekt je spolufinancovaný Európskou úniou v rámci Programu Slovensko.

Grafický návrh obálky: Vygenerované dňa 17.9.2026 pomocou generatívneho nástroja AI ChatGPT (model DALL-E 3) spoločnosti OpenAI na základe autorského zadania.

Predslov

Pľúcny surfaktant patrí medzi významné biologické systémy ľudského organizmu. Jeho výskum predstavuje jeden z výrazných príkladov úspešného prepojenia fyziologických poznatkov a klinickej medicíny. Zavedenie terapie exogénnym surfaktantom zásadne zlepšilo prognózu predčasne narodených novorodencov so syndrómom respiračnej tiesne. Súčasne sa ukazuje, že surfaktantový systém má význam aj pri akútnom poškodení pľúc a syndróme akútnej respiračnej tiesne u dospelých, kde možnosti jeho terapeutického ovplyvnenia sú predmetom intenzívneho výskumu.

Napriek desaťročiam výskumu zostávajú viaceré aspekty fungovania surfaktantového systému nedostatočne objasnené. Organizácia surfaktantového filmu, jeho dynamika počas respiračného cyklu, transport a obnova v alveolárnom priestore, regionálna heterogenita pľúc či mechanizmy jeho dysfunkcie naďalej predstavujú aktívne oblasti fyziologického a experimentálneho výskumu. Je to dôležité nielen pre pochopenie fyziologickej funkcie surfaktantu, ale aj pre vývoj nových terapeutických preparátov.

Na Ústave fyziológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského sa mechanizmy surfaktantovej terapie systematicky skúmajú už niekoľko desaťročí a to aj v spolupráci s viacerými domácimi a zahraničnými pracoviskami. Dlhodobé experimentálne a analytické skúsenosti vytvorili odborný základ pre vznik tohto učebného textu. Osobná vďaka patrí prof. Andrei Čalkovskej, vedúcej Ústavu fyziológie, za jej dlhoročné odborné vedenie, podporu vedeckej a pedagogickej práce a za vytváranie podmienok, ktoré umožnili rozvíjať túto výskumnú oblasť.

Skriptá sú určené predovšetkým študentom lekárskej fakulty a študentom doktorandského štúdia v biomedicínskych odboroch, ale aj lekárom a ďalším odborníkom so záujmom o respiračnú fyziológiu a experimentálny výskum pľúc. Ich cieľom je poskytnúť ucelený pohľad na pľúcny surfaktant od základných fyziologických a molekulárnych mechanizmov cez jeho dysfunkciu až po terapeutické využitie a experimentálne metódy jeho štúdia.

Veríme, že text prispeje nielen k osvojeniu základných poznatkov, ale aj k pochopeniu vzájomného prepojenia fyziológie, biofyziky, patofyziológie, experimentálneho výskumu a terapeutických prístupov.

Obsah

PREDSLOV **3**

ZOZNAM SKRATIEK 7

ÚVOD **10**

1 ÚVOD DO FYZIOLÓGIE DÝCHANIA **12**

1.1 MECHANIKA DÝCHANIA 12
1.1.1 Vzťahy medzi jednotlivými tlakmi počas dýchania *12*
1.1.2 Transpulmonálny tlak *15*
1.1.3 Fyzikálne faktory ovplyvňujúce ventiláciu *16*
1.2 PĽÚCNA VENTILÁCIA 19
1.2.1 Dychové objemy *20*
1.2.2 Pľúcne kapacity *20*
1.2.3 Minútová ventilácia *21*
1.2.4 Alveolárna ventilácia *22*
1.2.5 Mŕtvy priestor dýchacích ciest *23*
1.2.6 Funkčný význam ventilácie *23*
1.3 VENTILÁCIA-PERFÚZIA 25
1.3.1 Definícia $\dot{V}_A/\dot{Q}$ a fyziologické východiská *25*
1.3.2 Ventilácia-perfúzia: od „mŕtveho priestoru“ po „shunt *25*
1.3.3 Regionálna distribúcia ventilácie a perfúzie *27*
1.3.4 Hypoxická pľúcna vazokonstrikcia *28*
1.3.5 Klinické koreláty: mŕtvy priestor, skrat a prognóza *29*
1.4 DIFÚZIA PLYNOV 31
1.4.1 Fickov zákon a determinanty difúzie *31*
1.4.2 Alveolokapilárna membrána *32*
1.4.3 Difúzna kapacita pľúc *33*
1.4.4 Význam hrúbky a plochy alveolokapilárnej membrány pri difúzii plynov *34*
1.4.5 Prenos plynov limitovaný z hľadiska difúzie alebo perfúzie *34*
1.5 POVRCHOVÉ NAPÄTIE V ALVEOLÁCH 37
1.5.1 Povrchové napätie ako súčasť retrakčnej sily pľúc *37*
1.5.2 Laplaceov zákon a tlak v alveole *38*
1.5.3 Objemová závislosť a dynamika počas dychového cyklu *38*
1.5.4 Povrchové napätie a dychová práca *40*
1.5.5 Dôsledky alveolárnej nestability *40*

2 PĽÚCNY SURFAKTANT **43**

2.1 HISTORICKÝ KONTEXT A OBJAV SURFAKTANTU 43
2.2 MOLEKULÁRNE ZLOŽENIE PĽÚCNEHO SURFAKTANTU 46
2.2.1 Lipidová zložka surfaktantu *46*
2.2.2 Proteínová zložka surfaktantu *49*

2.2.2.1 Hydrofilné surfaktantové proteíny 49
2.2.2.2 Hydrofóbne surfaktantové proteíny 50
2.2.2.3 Molekulárna interakcia SP-B a SP-C s DPPC 51
2.3 BIOSYNTÉZA, SEKRÉCIA A DEGRADÁCIA PĽÚCNEHO SURFAKTANTU 54
2.3.1 Syntéza lipidovej zložky 54
2.3.2 Syntéza a proteolytické spracovanie SP-B a SP-C 57
2.3.3 Intracelulárne usporiadanie surfaktantových lipidov a proteínov 59
2.3.4 Sekrécia surfaktantu a exocytóza lamelárnych teliesok 60
2.3.5 Recyklácia a degradácia surfaktantu 61
2.3.6 Dynamická rovnováha syntézy, sekrécie a recyklácie surfaktantu 63
2.4 REGULAČNÉ MECHANIZMY SURFAKTANTOVEJ HOMEOSTÁZY 66
2.4.1 Transkripčná regulácia expresie surfaktantových génov 66
2.4.2 Hormonálna regulácia 67
2.4.3 Mechanická regulácia viazaná na ventiláciu 68
2.4.4 Imunologická a zápalová regulácia 69
2.5 ŠTRUKTÚRNA ORGANIZÁCIA A FUNKČNÁ DYNAMIKA PĽÚCNEHO SURFAKTANTU 72
2.5.1 Organizácia surfaktantu v alveolárnom priestore 72
2.5.2 Dynamika surfaktantového filmu počas dychového cyklu 74
2.5.3 Molekulárne mechanizmy regulácie povrchového napätia 76
2.5.4 Funkčný význam organizácie surfaktantu pre mechaniku pľúc 78
2.6 DISTRIBÚCIA, HETEROGENITA A POHYB SURFAKTANTU V PĽÚCACH 81
2.6.1 Heterogenita surfaktantu v pľúcach 81
2.6.2 Heterogenita surfaktantových agregátov 82
2.6.3 Surfaktant v dýchacích cestách 84
2.6.4 Pohyb surfaktantu v pľúcach 86
2.6.5 Mechanické faktory redistribúcie surfaktantu 87
2.6.6 Dôsledky heterogenity surfaktantu 88
2.7 PATOFYZIOLÓGIA SURFAKTANTU 90
2.7.1 Primárny deficit surfaktantu 91
2.7.2 Sekundárna dysfunkcia surfaktantu 92
2.7.3 Inaktivácia surfaktantu v alveolárnom prostredí 94
2.7.4 Genetické poruchy surfaktantového systému 95
2.7.5 Surfaktant a ventilátorom indukované poškodenie pľúc 96
3 EXOGÉNNY SURFAKTANT 100
3.1 TYPY EXOGÉNNYCH SURFAKTANTOV 100
3.1.1 Prírodné modifikované surfaktanty 101
3.1.2 Syntetické surfaktanty 105
3.1.2.1 Syntetické surfaktanty prvej generácie – lipidové zmesi bez proteínov 105
3.1.2.2 Syntetické surfaktanty druhej generácie – s jedným peptidovým analógom . 105
3.1.2.3 Syntetické surfaktanty tretej generácie – s analógmi SP-B a SP-C 107
3.2 POROVNANIE EXOGÉNNYCH SURFAKTANTOV 111
3.3 LIMITY SURFAKTANTOVEJ TERAPIE 112

4 METÓDY VÝSKUMU PĽÚCNEHO SURFAKTANTU 116
4.1 ŠTÚDIUM BIOFYZIKÁLNYCH VLASTNOSTÍ SURFAKTANTOVÉHO FILMU 116
4.1.1 Langmuirova vanička 117
4.1.2 Surfaktometer s pulzujúcou bublinou 118
4.1.3 Surfaktometer so zachytenou bublinou 119
4.1.4 Metóda ohraničenej ležiacej kvapky 121
4.1.5 Ďalšie tenziometrické metódy 121
4.2 MIKROSKOPICKÉ METÓDY ŠTÚDIA SURFAKTANTU 122
4.2.1 Atómová silová mikroskopia 122
4.2.2 Fluorescenčná mikroskopia 124
4.2.3 Brewsterova uhlová mikroskopia 124
4.3 BIOCHEMICKÁ A MOLEKULOVÁ ANALÝZA SURFAKTANTU 124
4.3.1 Lipidomika a hmotnostná spektrometria 125
4.3.2 Analýza surfaktantových proteínov 126
4.4 *IN VITRO*, *EX VIVO* A *IN VIVO* MODELY 127
4.4.1 Bunkové kultúry a alveolárne organoidy 127
4.4.2 Model lung-on-chip 128
4.4.3 Izolované a ex vivo perfundované pľúca 128
4.4.4 In vivo modely 129
4.4.4.1 Modely primárneho deficitu surfaktantu 129
4.4.4.2 Modely sekundárnej dysfunkcie surfaktantu 132
4.4.4.3 Porovnanie experimentálnych modelov ARDS 134
4.5 FUNKČNÉ HODNOTENIE SURFAKTANTU V EXPERIMENTÁLNYCH MODELOCH 136
ZÁVER 140
ZOZNAM OBRÁZKOV 142
ZOZNAM TABULIEK 145

Zoznam skratiek

A–a gradient: Alveolo-arteriálny gradient

ABCA3: Transportér ABCA3 (z angl. ATP-binding cassette transporter A3)

AFM: Atómová silová mikroskopia (z angl. Atomic force microscopy)

ARDS: Ayndróm akútnej respiračnej tiesne (z angl. Acute respiratory distress syndrome)

ATP: Adenozíntrifosfát

BAL: Bronchoalveolárna laváž

BAM: Brewsterova uhlová mikroskopia (z angl. Brewster Angle Microscopy)

BLES: Bovinný lipidový extrakt surfaktantu (z angl. Bovine lipid extract surfactant)

CB: Kompozitné teliesko v sekrečnej dráhe (z angl. Composite body)

CBS: surfaktometer so zachytenou bublinou (z angl. Captive Bubble Surfactometer)

CCT: CTP:fosfocholín cytidylyltransferáza

CDP: Cytidíndifosfát

CSD: Metóda ohraničenej ležiacej kvapky (z angl. Constrained sessile drop)

CTP: Cytidíntrifosfát

D: Difúzny koeficient

D_L: Difúzna kapacita pľúc

D_LCO: Difúzna kapacita pľúc pre oxid uhoľnatý

DPPC: Dipalmitoylfosfatidylcholín

EC: Exspiračná kapacita

ENaC: Epitelový sodíkový kanál (z angl. Epithelial Sodium Channel)

ER: Endoplazmatické retikulum

ERV: Exspiračný rezervný objem

FiO_2: Frakcia kyslíka vo vdychovanom vzduchu (z angl. Fraction of inspired oxygen)

FOXA2: Transkripčný faktor FOXA2 (Forkhead box A2)

FRC: Funkčná reziduálna kapacita

GATA6: Transkripčný faktor GATA6

GK: Glukokortikoid

HPV: Hypoxická pľúcna vazokonstrikcia (z angl. Hypoxic pulmonary vasoconstriction)

IC: Inspiračná kapacita

IL-1β: Interleukín 1 beta

IL-6: Interleukín 6

IRV: Inspiračný rezervný objem (z angl. Inspiratory reserve volume)

LA: Veľké surfaktantové agregáty (z angl. Large aggregates)

LB: Lamelárne telieska (z angl. Lamellar bodies)

LC: Kondenzovaná fáza lipidovej monovrstvy

LE: Expandovaná fáza lipidovej monovrstvy

LPS: Lipopolysacharid

MAS: Syndróm aspirácie mekónia (z angl. Meconium aspiration syndrome)

MVB: Multivezikulárne teliesko (z angl. Multivesicular body)

NKX2-1: Nukleárny transkripčný faktor NKX2-1

NL: Neutrálne lipidy

P_ACO_2: Alveolárny parciálny tlak oxidu uhličitého

P_AO_2: Alveolárny parciálny tlak kyslíka

P_aCO_2: Arteriálny parciálny tlak oxidu uhličitého

P_aO_2: Arteriálny parciálny tlak kyslíka

P_{atm}: Atmosférický tlak

PBS: Surfaktometer s pulzujúcou bublinou (z angl. Pulsating Bubble Surfactometer)

PC: Fosfatidylcholín

PEEP: Pozitívny tlak na konci exspíria (z angl. Positive end-expiratory pressure)

PG: Fosfatidylglycerol

PH_2O: Parciálny tlak vodnej pary

PL: Fosfolipid

POPC: Palmitoyl-oleoylfosfatidylcholín

POPG: Palmitoyl-oleoylfosfatidylglycerol

P_{pa}: Tlak v pľúcnych artériách

P_{pv}: Tlak v pľúcnych vénach

proSP-B: Prekurzor surfaktantového proteínu B

proSP-C: Prekurzor surfaktantového proteínu C

$\dot{Q}$: Prietok krvi pľúcami (perfúzia)

R_{aw}: Odpor dýchacích ciest (z angl. Airway resistance)

RDS: Syndróm respiračnej tiesne novorodencov (z angl. Respiratory distress syndrome)

RQ: Respiračný kvocient

RV: Reziduálny objem

SA: Malé surfaktantové agregáty (z angl. Small aggregates)

SFTPB: Gén pre surfaktantový proteín B

SFTPC: Gén pre surfaktantový proteín C

SNARE: Proteíny sprostredkujúce fúziu membrán (z angl. Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment Protein Receptor)

SP-A: Surfaktantový proteín A

SP-B: Surfaktantový proteín B

SP-C: Surfaktantový proteín C

SP-D: Surfaktantový proteín D

TLC: Celková pľúcna kapacita (z angl. Total lung capacity)

TNF-α: Tumor nekrotizujúci faktor alfa

TTF-1: Tyreoidálny transkripčný faktor 1

VC: Vitálna kapacita

$\dot{V}$: Objemový prietok vzduchu

$\dot{V}_A$: Alveolárna ventilácia

$\dot{V}_A/\dot{Q}$: Pomer alveolárnej ventilácie a perfúzie

$\dot{V}_E$: Minútová ventilácia

V_D: Objem mŕtveho priestoru

VILI: Ventilátorom indukované poškodenie pľúc (z angl. Ventilator-induced lung injury)

V_T: Dychový objem

Úvod

Základnou fyziologickou funkciou respiračného systému je efektívna výmena dýchacích plynov medzi vonkajším a vnútorným prostredím organizmu. Tento proces prebieha predovšetkým v pľúcnych alveolách, ktorých štruktúra umožňuje vytvorenie veľkej plochy na difúziu pri minimálnej difúznej vzdialenosti medzi alveolárnym plynom a krvou v pľúcnych kapilárach. Samotná architektúra alveol však ich mechanickú stabilitu nezabezpečuje. Na rozhraní vzduch – tekutina na ich povrchu vzniká povrchové napätie, ktoré vytvára sily podporujúce zmenšovanie alveolárneho priestoru, najmä pri nízkych pľúcnych objemoch.

Kľúčovým mechanizmom regulujúcim tieto sily je pľúcny surfaktant, komplexná zmes lipidov a špecifických surfaktantových proteínov, ktorú produkujú predovšetkým pneumocyty II. typu. Surfaktant dynamicky reguluje povrchové napätie na alveolárnom rozhraní počas respiračného cyklu, čím prispieva k stabilite alveol, zvyšuje poddajnosť pľúc a znižuje prácu potrebnú na ich ventiláciu. Jeho význam je obzvlášť výrazný na konci exspíria, keď pri zmenšovaní alveolárnej plochy obmedzuje tendenciu alveol ku kolapsu.

Funkcia surfaktantu však presahuje samotné znižovanie povrchového napätia. Ide o dynamický biologický systém, ktorého molekulárna organizácia, transport, metabolizmus a obnova sú úzko prepojené s mechanikou pľúc, štruktúrou alveolárneho epitelu, alveolárnou homeostázou a vrodenou imunitnou obranou.

Kvantitatívna alebo kvalitatívna porucha surfaktantového systému môže viesť k zvýšeniu povrchového napätia, zníženiu poddajnosti pľúc, alveolárnej nestabilite a poruchám výmeny dýchacích plynov. Význam surfaktantovej dysfunkcie je dobre dokumentovaný pri syndróme respiračnej tiesne novorodencov, kde je dominantným mechanizmom nedostatočná produkcia surfaktantu v nezrelých pľúcach. Sekundárna dysfunkcia surfaktantu sa uplatňuje aj pri akútnom poškodení pľúc a syndróme akútnej respiračnej tiesne, kde dochádza k zmenám jeho zloženia a funkcie v súvislosti s poškodením alveolárneho epitelu, zápalovou odpoveďou a zvýšenou permeabilitou alveolokapilárnej membrány. Pľúcny surfaktant tak predstavuje významné prepojenie medzi biofyzikou dýchania, bunkovou biológiou alveolárneho epitelu a patofyziológiou pľúcnych ochorení.

Cieľom učebného textu je systematicky spracovať problematiku pľúcneho surfaktantu v širšom kontexte respiračnej fyziológie. V úvodnej časti sú predstavené vybrané princípy fyziológie dýchania, ktoré nenahrádzajú vedomosti získané absolvovaním predmetov Fyziológia 1 a Fyziológia 2, ale poskytujú potrebný rámec na pochopenie mechanických a funkčných

vlastností pľúc a významu surfaktantového systému. Následne sa text venuje molekulárnemu zloženiu surfaktantu, jeho biosyntéze, sekrécii, metabolizmu, organizácii na alveolárnom rozhraní a biofyzikálnym mechanizmom jeho účinku.

Osobitná pozornosť je venovaná poruchám surfaktantového systému, exogénnej surfaktantovej terapii, jej limitom a perspektívam ďalšieho vývoja, ako aj experimentálnym a analytickým metódam využívaným pri štúdiu surfaktantu. Text je koncipovaný tak, aby postupoval od základných fyziologických princípov cez molekulárne a biofyzikálne mechanizmy až k ich patofyziologickým, terapeutickým a experimentálnym súvislostiam.

1 Úvod do fyziológie dýchania

Respiračný systém zabezpečuje kontinuálnu výmenu plynov medzi organizmom a vonkajším prostredím, predovšetkým príjem kyslíka a elimináciu oxidu uhličitého. Tento proces je nevyhnutný na udržanie oxidatívneho metabolizmu buniek a acidobázickej rovnováhy vnútorného prostredia. Výmena plynov zahŕňa niekoľko vzájomne prepojených procesov: pľúcnu ventiláciu, distribúciu alveolárnej ventilácie a pľúcnej perfúzie, difúziu plynov cez alveolokapilárnu membránu a následný transport kyslíka a oxidu uhličitého krvou. Porucha ktoréhokoľvek z týchto procesov môže narušiť efektívnu výmenu dýchacích plynov a viesť k hypoxémii, hyperkapnii alebo ich kombinácii a pri dostatočnej závažnosti k rozvoju respiračnej insuficiencie.

1.1 Mechanika dýchania

Pľúcna ventilácia je proces zabezpečujúci pohyb vzduchu medzi atmosférou a alveolárnym priestorom na základe tlakových rozdielov vznikajúcich v dôsledku činnosti dýchacích svalov. Je podmienená vzájomnými vzťahmi medzi tromi základnými tlakmi: atmosférickým, alveolárnym a interpleurálnym.

Pri pokojnom spontánnom dýchaní sa tieto tlaky menia v relatívne úzkom rozsahu. V rovnovážnom stave respiračného systému na konci pokojného exspíria, ktorý zodpovedá funkčnej reziduálnej kapacite (FRC), je alveolárny tlak rovný atmosférickému tlaku a prietok vzduchu je nulový.

1.1.1 Vzťahy medzi jednotlivými tlakmi počas dýchania

Pohyb vzduchu medzi atmosférou a pľúcami počas respiračného cyklu je podmienený rozdielom medzi atmosférickým a alveolárnym tlakom. Prúdenie vzduchu nastáva v smere tlakového gradientu, teda z oblasti vyššieho tlaku do oblasti nižšieho tlaku.

Tlak plynu je fyzikálna veličina vyjadrujúca silu pôsobiacu kolmo na jednotku plochy. Na molekulovej úrovni vzniká v dôsledku nárazov molekúl plynu na steny priestoru, ktorý plyn ohraničuje. Vzťah medzi tlakom a objemom plynu pri konštantnej teplote a konštantnom množstve plynu opisuje Boyleov zákon. Podľa neho je tlak plynu nepriamo úmerný jeho objemu.

Boyleov zákon možno vyjadriť vzťahom:

$$P_1 \times V_1 = P_2 \times V_2$$

kde:

P_1 a V_1 predstavujú počiatočný tlak a objem plynu

P_2 a V_2 predstavujú konečný tlak a objem plynu

V kontexte dýchania sa tento fyzikálny princíp uplatňuje pri zmenách objemu pľúc počas dychového cyklu. Zväčšenie objemu pľúc počas inspíria vedie k poklesu alveolárneho tlaku pod úroveň atmosférického tlaku, čím vzniká tlakový gradient umožňujúci prúdenie vzduchu do pľúc. Naopak, zmenšenie objemu pľúc počas exspíria vedie k zvýšeniu alveolárneho tlaku nad úroveň atmosférického tlaku a k prúdeniu vzduchu z alveolárneho priestoru do vonkajšieho prostredia. Prúdenie vzduchu pokračuje dovtedy, kým sa rozdiel medzi alveolárnym a atmosférickým tlakom nevyrovná. Pre ďalší výklad je preto potrebné rozlíšiť tri základné tlaky: atmosférický, alveolárny a interpleurálny.

Atmosférický tlak predstavuje tlak vyvíjaný atmosférou na povrch telies a je dôsledkom hmotnosti vzduchového stĺpca nad daným miestom. Jeho jednotkou v sústave SI je pascal (Pa), v respiračnej fyziológii sa však často vyjadruje aj v milimetroch ortuťového stĺpca (mmHg). Štandardná atmosféra (1 atm) je definovaná ako 101 325 Pa, čo zodpovedá 760 mmHg. Atmosférický tlak sa mení najmä v závislosti od nadmorskej výšky a meteorologických podmienok.

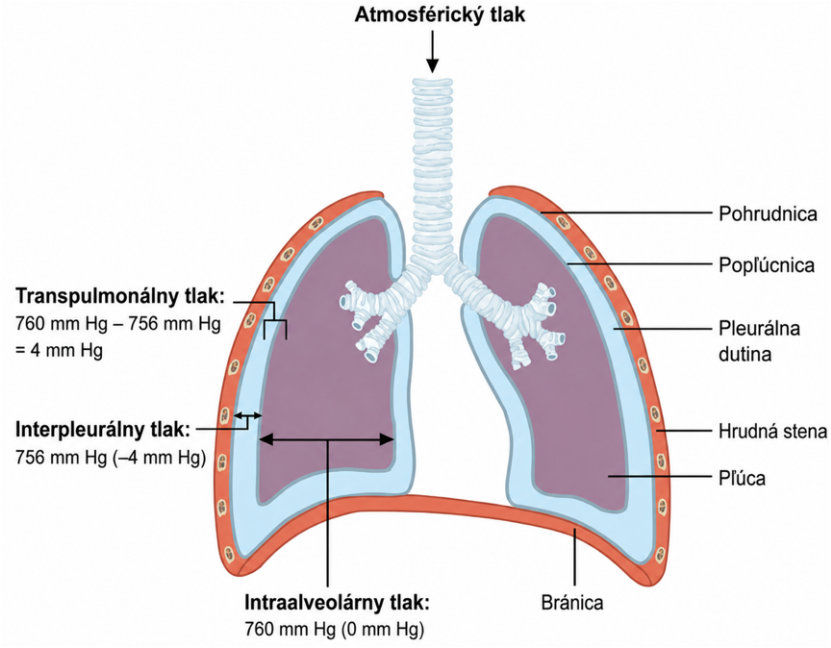
V respiračnej fyziológii sa tlaky často vyjadrujú relatívne k atmosférickému tlaku, ktorý sa používa ako referenčná hodnota a konvenčne sa označuje ako nula. Tlak nižší ako atmosférický má preto zápornú a tlak vyšší ako atmosférický kladnú hodnotu. Hodnoty alveolárneho a interpleurálneho tlaku vyjadrené týmto spôsobom teda predstavujú rozdiel oproti atmosférickému tlaku, nie ich absolútne hodnoty.

Alveolárny tlak je tlak plynu v alveolách, ktorý sa mení v priebehu jednotlivých fáz dychového cyklu (obr. 1). Keďže alveoly prostredníctvom dýchacích ciest komunikujú s atmosférou, pri nulovom prietoku vzduchu sa alveolárny tlak vyrovnáva s atmosférickým tlakom. Prechodné rozdiely medzi alveolárnym a atmosférickým tlakom vznikajú počas objemových zmien pľúc a vytvárajú tlakový gradient potrebný na prúdenie vzduchu. Pri pokojnom spontánnom dýchaní sa na konci inspíria a exspíria, keď prúdenie vzduchu ustáva, alveolárny tlak opäť vyrovnáva s atmosférickým tlakom. Prúdenie vzduchu medzi atmosférou a alveolami teda nastáva iba vtedy, ak medzi nimi existuje tlakový gradient.

Interpleurálny tlak je tlak v pleurálnom priestore medzi viscerálnou a parietálnou pleurou (obr. 1). Počas dychového cyklu sa mení a za fyziologických podmienok pokojného spontánneho dýchania je nižší ako atmosférický tlak. Ak sa atmosférický tlak používa ako referenčná nulová hodnota, interpleurálny tlak sa preto vyjadruje zápornými hodnotami. Na konci pokojného exspíria dosahuje približne –5 cm H_2O a počas inspíria sa jeho hodnota stáva negatívnejšou.

Subatmosférický interpleurálny tlak je výsledkom vzájomného pôsobenia elastických vlastností pľúc a hrudnej steny. Pľúca majú pri fyziologických objemoch tendenciu kolabovať (retrahovať) sa smerom dovnútra v dôsledku elastických vlastností pľúcneho tkaniva a síl súvisiacich s povrchovým napätím na alveolárnom rozhraní vzduch – tekutina. Proti tejto tendencii pri funkčnej reziduálnej kapacite pôsobí elastická retrakcia hrudnej steny smerom von. Vzájomné pôsobenie týchto protichodných elastických síl prispieva k vzniku a udržiavaniu subatmosférického tlaku v pleurálnom priestore.

Medzi viscerálnou a parietálnou pleurou sa nachádza tenká vrstva pleurálnej tekutiny, ktorá umožňuje vzájomný pohyb pleurálnych listov s minimálnym trením a zároveň zabezpečuje mechanické spojenie medzi pľúcami a hrudnou stenou. Vďaka tomuto spojeniu sa zmeny objemu hrudníka prenášajú na pľúca. Objem pleurálnej tekutiny je za fyziologických podmienok udržiavaný rovnováhou medzi jej tvorbou a odstraňovaním, pričom významnú úlohu zohráva najmä lymfatická drenáž parietálnej pleury. Nahromadenie väčšieho množstva tekutiny v pleurálnom priestore zvyšuje pleurálny tlak, znižuje transpulmonálny tlak a môže viesť ku kompresii pľúc. Vstup vzduchu do pleurálneho priestoru pri pneumotoraxe takisto znižuje transpulmonálny tlak; pri vyrovnaní pleurálneho tlaku s atmosférickým môže transpulmonálny tlak prakticky zaniknúť, čo vedie k elastickej retrakcii a kolapsu postihnutej časti pľúc.



Obrázok 1 *Znázornenie vzťahu medzi atmosférickým, intraalveolárnym, interpleurálnym a transpulmonálnym tlakom na konci exspíria. Intraalveolárny tlak sa rovná atmosférickému, nedochádza k prúdeniu vzduchu. Interpleurálny tlak je negatívny a rozdiel medzi nimi je transpulmonálny tlak, ktorý udržiava pľúca rozvinuté (upravené podľa Betts et al., 2022).*

1.1.2 Transpulmonálny tlak

Vzájomné vzťahy medzi atmosférickým, alveolárnym a interpleurálnym tlakom nadobúdajú fyziologický význam predovšetkým pri posudzovaní tlakových rozdielov medzi jednotlivými kompartmentmi respiračného systému. Samotná absolútna hodnota jednotlivých tlakov neurčuje mieru distenzie pľúc; rozhodujúci je tlakový rozdiel pôsobiaci naprieč pľúcami. Tento rozdiel vyjadruje transpulmonálny tlak (obr. 1).

Transpulmonálny tlak predstavuje rozdiel medzi alveolárnym a interpleurálnym tlakom. Predstavuje distenzný tlak pľúc, ktorý pôsobí proti ich elastickej retrakcii. Pri daných elastických vlastnostiach pľúc je transpulmonálny tlak významným determinantom ich objemu. Počas nádychu (inspíria) sa transpulmonálny tlak zvyšuje, čo vedie k rozpínaniu pľúc a zväčšovaniu ich objemu. Počas výdychu (exspíria) sa naopak znižuje, čím sa uplatňuje elastická retrakcia pľúc a ich objem sa zmenšuje. Veľkosť zmeny pľúcneho objemu pri určitej zmene transpulmonálneho tlaku závisí od poddajnosti pľúc. Transpulmonálny tlak tak predstavuje kľúčovú veličinu prepájajúcu tlakové pomery v respiračnom systéme s elastickými vlastnosťami pľúc.

1.1.3 Fyzikálne faktory ovplyvňujúce ventiláciu

Ventilácia pľúc nie je určená iba rozdielmi medzi atmosférickým, alveolárnym a interpleurálnym tlakom. Tieto tlakové rozdiely vznikajú ako dôsledok činnosti dýchacích svalov a sú ovplyvňované mechanickými vlastnosťami dýchacieho systému. Rozsah a efektivita ventilácie sú preto podmienené kombináciou svalovej aktivity, elastických vlastností pľúc a hrudnej steny a odporu respiračného systému, hlavne odporu v dýchacích cestách (R_{aw}).

Úloha dýchacích svalov

Samotné pľúca sa aktívne nepodieľajú na vytváraní pohybu vedúceho k ventilácii. Ich objemové zmeny sú pasívnym dôsledkom zmien objemu hrudnej dutiny a následných zmien transpulmonálneho tlaku. Hlavným inspiračným svalom pri pokojnom dýchaní je bránica, ktorej kontrakcia a kaudálny posun vedú k zväčšeniu vertikálneho rozmeru hrudnej dutiny. Na inspírium sa podieľajú aj vonkajšie medzirebrové svaly, ktoré prispievajú k elevácii rebier a zväčšeniu priečneho a predozadného rozmeru hrudníka.

Mechanické prepojenie medzi pľúcami a hrudnou stenou umožňujú pleurálne listy a tenká vrstva pleurálnej tekutiny medzi nimi. Tá umožňuje ich vzájomný pohyb s minimálnym trením a zároveň efektívny prenos mechanických síl medzi hrudnou stenou a pľúcami. Počas pokojného spontánneho inspíria vedie kontrakcia inspiračných svalov k zväčšeniu objemu hrudnej dutiny a poklesu interpleurálneho tlaku. Tým sa zvyšuje transpulmonálny tlak, ktorý vedie k rozpínaniu pľúc a zväčšeniu ich objemu.

Pokojné exspírium je za fyziologických podmienok prevažne pasívnym procesom. Po relaxácii inspiračných svalov klesá transpulmonálny tlak a elastická retrakcia respiračného systému vedie k zmenšeniu objemu pľúc.

Odpor dýchacích ciest

Prietok vzduchu dýchacími cestami závisí od tlakového gradientu, ktorý prúdenie vzduchu podmieňuje, a od odporu dýchacích ciest, ktorý jeho prúdenie obmedzuje. Odpor dýchacích ciest je definovaný ako pomer tlakového rozdielu medzi atmosférou a alveolami a výsledného prietoku vzduchu:

$$R_{aw} = \Delta P / \dot{V}$$

kde:

R_{aw} (Airway resistance) predstavuje odpor dýchacích ciest proti prúdeniu vzduchu

ΔP predstavuje tlakový rozdiel medzi začiatkom a koncom dýchacích ciest, teda medzi atmosférou a alveolami ($P_{atm} – P_A$), ktorý je hnacou silou prúdenia vzduchu

$\dot{V}$ predstavuje prietok vzduchu (objem za jednotku času)

Zo vzťahu vyplýva, že odpor určuje, aký veľký tlakový gradient je potrebný na vytvorenie určitého prietoku vzduchu. Čím vyšší je odpor, tým väčší tlakový rozdiel musí byť generovaný na udržanie rovnakého prietoku.

Veľkosť odporu závisí predovšetkým od priemeru dýchacích ciest. Pri laminárnom prúdení je odpor nepriamo úmerný štvrtej mocnine polomeru priedušiek (Poiseuilleov zákon), čo znamená, že aj malé zúženie dýchacích ciest vedie k výraznému zvýšeniu odporu. Odpor je ovplyvnený aj charakterom prúdenia (laminárne vs. turbulentné), viskozitou plynu a dĺžkou dýchacích ciest. Zvýšený odpor vedie k zvýšenej práci dýchania, pretože na udržanie rovnakého prietoku je potrebný väčší tlakový gradient.

Elastické vlastnosti pľúc a hrudnej steny

Elastický spätný ťah pľúc vzniká kombináciou dvoch faktorov: elasticity pľúcneho tkaniva a povrchového napätia na rozhraní vzduch – tekutina v alveolách. Hrudná stena má naopak tendenciu expandovať smerom von. Rovnováha medzi týmito silami určuje objem pľúc v pokoji. Poddajnosť (compliance) vyjadruje schopnosť pľúc alebo hrudnej steny meniť objem v odpovedi na zmenu tlaku. Znížená poddajnosť znamená, že na dosiahnutie rovnakého objemového nárastu je potrebná väčšia zmena tlaku. Elastické vlastnosti systému tak významne ovplyvňujú náročnosť ventilácie.

Ako už bolo uvedené vyššie, povrch alveol je pokrytý tenkou vrstvou tekutiny. Povrchové napätie na tomto rozhraní vytvára silu smerujúcu k zmenšeniu objemu alveol. Pľúcny surfaktant znižuje povrchové napätie na rozhraní vzduch-tekutina. Tým zvyšuje poddajnosť pľúc a stabilizuje alveoly pri nízkych objemoch. Bez dostatočnej surfaktantovej aktivity by bol elastický odpor výrazne vyšší a ventilácia by vyžadovala podstatne väčšiu mechanickú prácu. Kolaps alveol by bol pravdepodobnejší najmä pri nízkych pľúcnych objemoch.

Ventilácia je ovplyvnená aj mechanickými vlastnosťami hrudnej steny. Poddajnosť hrudnej steny vyjadruje jej schopnosť meniť objem v odpovedi na zmenu tlaku. Znížená poddajnosť znamená, že na dosiahnutie rovnakého zväčšenia objemu hrudníka je potrebná väčšia svalová sila. Keďže objem pľúc je priamo závislý od objemu hrudnej dutiny, znížená poddajnosť hrudnej steny zvyšuje nároky na dýchacie svaly a zvyšuje prácu dýchania.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 1.1

Boron WF, Boulpaep EL. Medical Physiology. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2022.

Gattinoni L et al. Regional physiology of ARDS. Intensive Care Medicine. 2017;43(7):1091–1093.
Graham BL et al. Standardization of spirometry 2019 update. Eur Respir J. 2019;53(2):1801216.
Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.
Javorka K et al. Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty. 5. prepracované a doplnené vyd. Martin: Osveta; 2021.
Levitzky MG. Pulmonary Physiology. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
Lumb AB. Nunn's Applied Respiratory Physiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
Macklem PT. The mechanics of breathing. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157(5 Pt 2):S88–S94.
Mead J. Mechanical properties of lungs. Physiol Rev. 1990;70(2):461–505.
Pellegrino R et al. Interpretative strategies for lung function tests. Eur Respir J. 2005;26(5):948–968.
Tobin MJ. Principles and Practice of Mechanical Ventilation. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 2013.

1.2 Pľúcna ventilácia

Pľúcna ventilácia je zabezpečovaná rytmickým striedaním nádychu a výdychu, pri ktorom dochádza k výmene vzduchu medzi atmosférou a pľúcnymi alveolami. Tým sa podieľa na udržiavaní alveolárnych parciálnych tlakov kyslíka a oxidu uhličitého potrebných na efektívnu výmenu dýchacích plynov.

Z funkčného hľadiska je alveolárna ventilácia významným determinantom parciálnych tlakov O_2 a CO_2 v alveolárnom priestore. Pri konštantnej metabolickej produkcii CO_2 je alveolárny parciálny tlak oxidu uhličitého (P_ACO_2) nepriamo úmerný alveolárnej ventilácii. Zvýšenie alveolárnej ventilácie preto vedie k poklesu P_ACO_2 a následne aj arteriálneho P_aCO_2, zatiaľ čo jej zníženie vedie k ich vzostupu.

Alveolárna ventilácia ovplyvňuje aj parciálny tlak kyslíka v alveolách (P_AO_2). Jeho hodnota však závisí nielen od ventilácie, ale aj od koncentrácie kyslíka vo vdychovanom vzduchu, atmosférického tlaku a P_aCO_2. Vzťah medzi týmito veličinami vyjadruje alveolárna plynová rovnica:

$$P_AO_2 = FiO_2\ (P_{atm} - PH_2O) - P_aCO_2 / RQ$$

kde:

P_AO_2 predstavuje alveolárny parciálny tlak kyslíka

FiO_2 predstavuje frakciu kyslíka vo vdychovanom plyne

P_{atm} predstavuje atmosférický tlak

PH_2O parciálny tlak vodnej pary vo vdychovanom plyne po jeho zvlhčení v dýchacích cestách

P_aCO_2 predstavuje parciálny tlak oxidu uhličitého v arteriálnej krvi

RQ je respiračný kvocient vyjadrujúci pomer produkcie CO_2 k spotrebe O_2; pri zmiešanej strave má hodnotu približne 0,8

Rovnica ukazuje, že parciálny tlak kyslíka v alveolách závisí od množstva kyslíka dostupného vo vdychovanom plyne, atmosférického tlaku a alveolárneho PCO_2, ktorý je úzko spätý s alveolárnou ventiláciou. Pri konštantnej FiO_2 a atmosférickom tlaku vedie alveolárna hypoventilácia k vzostupu P_ACO_2 a súčasnému poklesu P_AO_2. Naopak, pri alveolárnej hyperventilácii P_ACO_2 klesá a P_AO_2 sa zvyšuje.

Ventilácia teda nie je izolovaným mechanickým dejom, ale nevyhnutnou súčasťou výmeny dýchacích plynov. Jej účinnosť závisí nielen od celkového množstva vzduchu privádzaného do alveol, ale aj od jeho distribúcie v pľúcach a od vzťahu alveolárnej ventilácie k pľúcnej perfúzii.

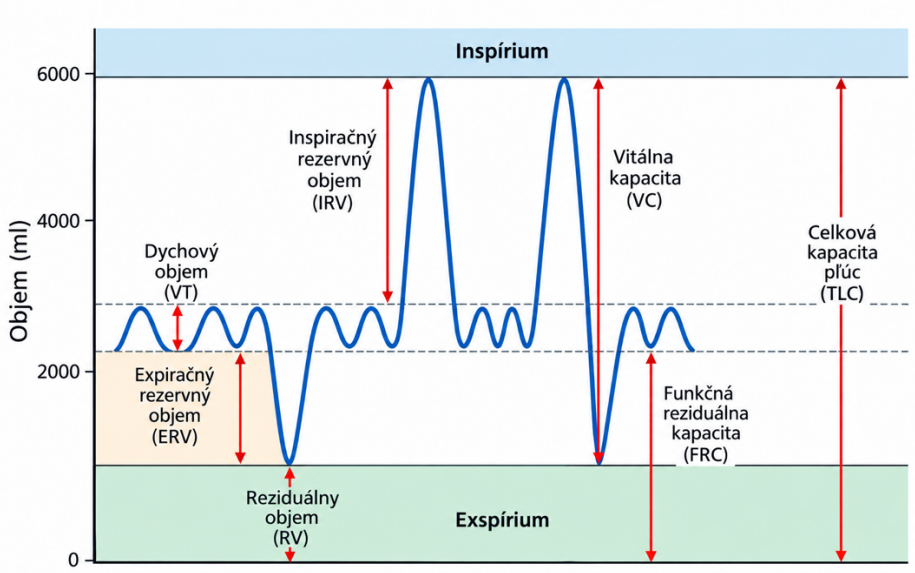
1.2.1 Dychové objemy

Základnou jednotkou ventilácie je dychový objem (V_T), ktorý predstavuje objem vzduchu vdýchnutý alebo vydýchnutý počas pokojného dýchania. U dospelého človeka sa pri pokojnom dýchaní pohybuje okolo 500 ml, pričom jeho veľkosť závisí aj od telesnej konštitúcie, pohlavia a aktuálnych metabolických požiadaviek. Okrem dychového objemu rozlišujeme ďalšie objemy, ktoré charakterizujú maximálne schopnosti respiračného systému (obr. 2):

Inspiračný rezervný objem (IRV) je objem, ktorý možno vdýchnuť navyše po pokojnom nádychu. Tento objem predstavuje schopnosť pľúc reagovať na zvýšené metabolické nároky.

Exspiračný rezervný objem (ERV) je objem, ktorý možno vydýchnuť navyše po pokojnom výdychu. Je ovplyvnený elastickými vlastnosťami pľúc a hrudnej steny.

Reziduálny objem (RV) je objem vzduchu, ktorý zostáva v pľúcach po maximálnom výdychu. Tento objem nemožno vydýchnuť a má zásadný význam pre udržiavanie kontinuálnej výmeny plynov medzi jednotlivými dychmi.



Obrázok 2 *Dychové objemy a kapacity. Krivka predstavuje dychový objem (V_T) a jeho rozšírenie o inspiračný (IRV) a exspiračný rezervný objem (ERV). Zobrazené sú základné pľúcne kapacity: vitálna kapacita (VC), funkčná reziduálna kapacita (FRC) a celková kapacita pľúc (TLC), pričom reziduálny objem (RV) zostáva v pľúcach aj po maximálnom exspíriu (upravené podľa Hall, 2020).*

1.2.2 Pľúcne kapacity

Z kombinácie jednotlivých objemov sú odvodené pľúcne kapacity, ktoré poskytujú komplexnejší pohľad na mechanické vlastnosti respiračného systému (obr. 2).

Vitálna kapacita (VC) je súčet inspiračného rezervného objemu, dychového objemu a exspiračného rezervného objemu. Predstavuje maximálny objem vzduchu, ktorý možno vydýchnuť po maximálnom nádychu.

Celková pľúcna kapacita (TLC) je súčet vitálnej kapacity a reziduálneho objemu. Predstavuje objem vzduchu v pľúcach po maximálnom inspíriu a zodpovedá maximálnemu objemu, ktorý môžu pľúca za fyziologických podmienok dosiahnuť.

Funkčná reziduálna kapacita (FRC) je súčet exspiračného rezervného objemu a reziduálneho objemu. Predstavuje objem vzduchu zostávajúci v pľúcach na konci pokojného exspíria a zodpovedá rovnovážnemu objemu respiračného systému, pri ktorom je elastická retrakcia pľúc smerom dovnútra vyvážená elastickou retrakciou hrudnej steny smerom von. FRC má významnú fyziologickú úlohu, pretože predstavuje zásobáreň alveolárneho plynu medzi jednotlivými dychmi a tlmí výkyvy jeho zloženia a parciálnych tlakov O_2 a CO_2. Zníženie FRC zmenšuje túto zásobu plynu a môže prispievať k rýchlejšiemu poklesu alveolárneho a arteriálneho parciálneho tlaku kyslíka, najmä pri apnoe alebo zvýšenej spotrebe O_2.

Inspiračná kapacita (IC) je súčet dychového objemu a inspiračného rezervného objemu. Predstavuje maximálny objem vzduchu, ktorý možno vdýchnuť po skončení pokojného exspíria.

Exspiračná kapacita (EC) je maximálny objem vzduchu, ktorý môže človek vydýchnuť po normálnom (pokojnom) nádychu.

1.2.3 Minútová ventilácia

Minútová ventilácia ($\dot{V}_E$) predstavuje celkový objem vzduchu, ktorý sa vymení v pľúcach za jednu minútu. Je definovaná ako súčin dychového objemu a frekvencie dýchania:

$$\dot{V}_E = V_T \times f$$

kde:

$\dot{V}_E$ je minútová ventilácia

V_T je dychový objem

f je frekvencia dýchania

Pri pokojnom dýchaní sa minútová ventilácia pohybuje približne medzi 6 až 8 litrami za minútu. Tento parameter však vyjadruje len celkový objem ventilovaného vzduchu, nie efektívnu výmenu plynov.

Zvýšenie minútovej ventilácie sa môže dosiahnuť zvýšením dychového objemu, zvýšením frekvencie dýchania alebo kombináciou oboch mechanizmov. Tieto dva spôsoby však nemajú rovnaký efekt na alveolárnu ventiláciu. Dôvodom je prítomnosť anatomického mŕtveho priestoru, ktorého objem sa pri každom dychu ventiluje ako prvý, ale nepodieľa sa na výmene plynov. Ak sa minútová ventilácia zvyšuje predovšetkým zvýšením frekvencie pri malom dychovom objeme, významná časť každého dychu zostáva v mŕtvom priestore a prírastok alveolárnej ventilácie je relatívne malý. Naopak, prehĺbenie dýchania, t.j. zvýšenie dychového objemu vedie k tomu, že väčšia časť vdýchnutého vzduchu presahuje objem mŕtveho priestoru a dostáva sa do alveol, čím sa alveolárna ventilácia zvyšuje efektívnejšie.
Pacient môže mať zvýšenú minútovú ventiláciu (napr. pri tachypnoe), ale ak je dýchanie plytké, alveolárna ventilácia môže byť nedostatočná. Preto samotná frekvencia dýchania nie je spoľahlivým ukazovateľom efektivity ventilácie.

1.2.4 Alveolárna ventilácia

Na výmene plynov sa nepodieľa celý objem vdýchnutého vzduchu. Časť vzduchu zostáva v dýchacích cestách, kde nedochádza k difúzii medzi plynom a krvou. Objem týchto dýchacích ciest sa označuje ako anatomický mŕtvy priestor (V_D). Alveolárna ventilácia ($\dot{V}_A$) predstavuje objem vzduchu, ktorý sa za minútu dostane do alveol a podieľa sa na výmene plynov:

$$\dot{V}_A = (V_T - V_D) \times f$$

kde:
$\dot{V}_A$ je alveolárna ventilácia
V_T je dychový objem
V_D je objem mŕtveho priestoru
f je frekvencia dýchania

Alveolárna ventilácia je nepriamo úmerná arteriálnemu parciálnemu tlaku oxidu uhličitého. Pokles alveolárnej ventilácie vedie k retencii CO_2 a rozvoju hyperkapnie, zatiaľ čo jej zvýšenie vedie k poklesu P_aCO_2. Hyperkapnia je dôsledkom nedostatočnej alveolárnej ventilácie vzhľadom na produkciu CO_2. Hypokapnia vzniká pri jej nadmernom zvýšení. Arteriálny P_aCO_2 je preto základným funkčným ukazovateľom alveolárnej ventilácie a predstavuje základ hodnotenia respiračnej insuficiencie typu II (hyperkapnickej respiračnej insuficiencie). Ide o stav, pri ktorom nedostatočná alveolárna ventilácia vedie k zvýšeniu P_aCO_2 nad približne 6,0 kPa (45 mmHg), pričom hyperkapnia býva často sprevádzaná aj hypoxémiou.

1.2.5 Mŕtvy priestor dýchacích ciest

Mŕtvy priestor predstavuje objem dýchacieho systému, ktorý sa síce ventiluje, ale nepodieľa sa na výmene plynov medzi alveolárnym vzduchom a krvou. Z fyziologického hľadiska rozlišujeme anatomický, alveolárny a fyziologický mŕtvy priestor. Anatomický mŕtvy priestor zahŕňa dýchacie cesty od nosovej dutiny až po terminálne bronchioly, kde nedochádza k difúzii plynov. Alveolárny mŕtvy priestor predstavuje alveoly, ktoré sú ventilované, ale nie sú dostatočne perfundované, a preto sa na výmene plynov nepodieľajú efektívne. Súčet anatomického a alveolárneho mŕtveho priestoru sa označuje ako celkový (funkčný) mŕtvy dychový priestor.

Za fyziologických podmienok je alveolárny mŕtvy priestor minimálny, takže celkový mŕtvy priestor sa približne rovná anatomickému. Zmena veľkosti mŕtveho priestoru má priamy vplyv na alveolárnu ventiláciu, pretože časť každého dychu sa využije len na ventiláciu týchto oblastí bez prínosu k výmene plynov. Zvýšenie mŕtveho priestoru vedie k zníženiu efektivity ventilácie a môže sa prejaviť retenciou oxidu uhličitého, ak nie je kompenzované zvýšením dychového objemu alebo frekvencie dýchania. Mŕtvy priestor tak predstavuje dôležitý faktor určujúci skutočnú účinnosť ventilácie, pričom jeho význam sa zvýrazňuje najmä v patologických stavoch, pri ktorých dochádza k poruche perfúzie alebo ventilácie jednotlivých častí pľúcneho parenchýmu.

Zvýšenie celkového mŕtveho priestoru je typické pre poruchy ventilácie/perfúzie, napríklad pri pľúcnej embólii alebo akútnom respiračnom zlyhaní. Zvýšený podiel mŕtveho priestoru je spojený s horšou prognózou pri ARDS.

1.2.6 Funkčný význam ventilácie

Ventilácia vytvára podmienky na výmenu dýchacích plynov medzi alveolárnym plynom a krvou v pľúcnych kapilárach. Efektívnosť tejto výmeny závisí od vzájomného vzťahu alveolárnej ventilácie a pľúcnej perfúzie. Ventiláciu je preto potrebné hodnotiť aj v kontexte ventilačno-perfúzneho pomeru ($\dot{V}_A/\dot{Q}$), pretože samotná hodnota minútovej ventilácie ($\dot{V}_E$) alebo alveolárnej ventilácie ($\dot{V}_A$) neposkytuje úplnú informáciu o efektívnosti výmeny dýchacích plynov.

Alveolárna ventilácia významne ovplyvňuje parciálne tlaky CO_2 a O_2 v alveolách. Ak je alveolárna ventilácia nedostatočná vzhľadom na metabolickú produkciu CO_2, P_ACO_2 stúpa a CO_2 sa hromadí v organizme. Súčasne dochádza k poklesu P_AO_2. Naopak, zvýšenie alveolárnej ventilácie vedie k poklesu P_ACO_2 a vzostupu P_AO_2.

Výsledná výmena dýchacích plynov však nezávisí iba od veľkosti alveolárnej ventilácie. Pre efektívny prestup O_2 z alveol do krvi a CO_2 z krvi do alveol je nevyhnutné primerané regionálne zosúladenie alveolárnej ventilácie a pľúcnej perfúzie. Poruchy ventilačno-perfúzneho pomeru preto môžu viesť k hypoxémii aj pri zachovanej celkovej alveolárnej ventilácii.

Ventilácia tak predstavuje dynamický proces, ktorý sa prispôsobuje metabolickým nárokom organizmu a v súčinnosti s pľúcnou perfúziou a difúziou zabezpečuje udržiavanie fyziologických parciálnych tlakov O_2 a CO_2.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 1.2

Betts, J. Gordon et al. 2022. Anatomy and Physiology 2e. [online]. OpenStax. [cit. 2026-09-14]. Kapitola 22.3, Figure 22.16. Dostupné na: https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology-2e/pages/22-3-the-process-of-breathing

Clark AR et al. Ventilation–perfusion matching: of myths, mice, and men. Physiology (Bethesda). 2019;34(6):419–429.

Costanzo LS. Physiology. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018.

Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2020.

Hopkins SR. Ventilation/perfusion relationships and gas exchange. Comprehensive Physiology. 2020;10(3):1155–1205.

Javorka K et al. Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty. 5. prepracované a doplnené vyd. Martin: Osveta; 2021.

Levitzky MG. Pulmonary Physiology. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.

Lumb AB. Nunn's Applied Respiratory Physiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.

Miller MR et al. Standardisation of spirometry. European Respiratory Journal. 2005;26(2):319–338.

Murias G, Blanch L, Lucangelo U. The physiology of ventilation. Respiratory Care. 2014;59(11):1795–1807.

Wanger J et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. European Respiratory Journal. 2005;26(3):511–522.

1.3 Ventilácia-perfúzia

Efektívna výmena dýchacích plynov vyžaduje primeraný vzťah medzi alveolárnou ventiláciou ($\dot{V}_A$) a pľúcnou perfúziou ($\dot{Q}$). Tento vzťah vyjadruje ventilačno-perfúzny pomer ($\dot{V}_A/\dot{Q}$). Keďže ventilácia a perfúzia nie sú v pľúcach rozložené rovnomerne, hodnoty $\dot{V}_A/\dot{Q}$ sa medzi jednotlivými oblasťami pľúc líšia. Porucha ich vzájomného pomeru môže viesť k zhoršeniu výmeny O_2 a CO_2 aj pri zachovanej celkovej ventilácii a perfúzii.

1.3.1 Definícia $\dot{V}_A/\dot{Q}$ a fyziologické východiská

Pre výmenu plynov je dôležitá alveolárna ventilácia, nie celková minútová ventilácia, pretože časť každého dychu ventiluje anatomický mŕtvy priestor. Perfúzia je prietok krvi pľúcnym kapilárnym riečiskom dostupným pre výmenu plynov. Ak berieme do úvahy, že alveolárna ventilácia je približne 4 l/min a prietok pľúcnym riečiskom okolo 5 l/min, pomer $\dot{V}_A/\dot{Q}$ sa u zdravého dospelého pohybuje okolo 0,8. Tento pomer nie je v pľúcach uniformný. Aj u zdravého človeka existuje regionálna variabilita, najmä v dôsledku gravitácie, rozdielnej mechaniky alveol a rozdielnych tlakov v pľúcnom cievnom riečisku.

- Ak je ventilácia a perfúzia dokonale vyvážená ($\dot{V}_A/\dot{Q} \approx 1$), alveolárne parciálne tlaky sa približujú ideálnym hodnotám pre efektívnu výmenu plynov.
- Ak sa pomer zvyšuje (ventilácia prevyšuje perfúziu), alveolárny PO_2 stúpa a PCO_2 klesá, alveoly sú dobre ventilované, ale nedostatočne prekrvené. Výmena plynov je neefektívna, vzniká tzv. alveolárny mŕtvy priestor.
- Ak sa pomer znižuje (perfúzia prevyšuje ventiláciu), alveolárny PO_2 klesá a PCO_2 stúpa. Alveolárne kapiláry sú dobre perfundované, ale prívod vzduchu je nedostatočný.

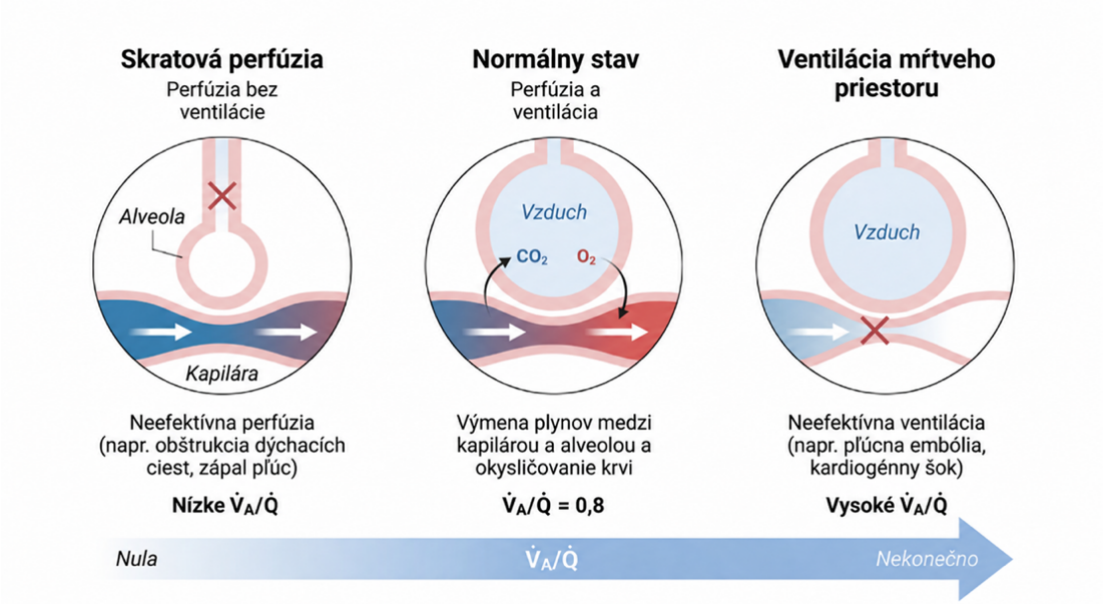
1.3.2 Ventilácia-perfúzia: od „mŕtveho priestoru“ po „shunt

Pre pochopenie patofyziológie syndrómu akútnej respiračnej tiesne a možností surfaktantovej terapie je nevyhnutné objasniť poruchy ventilačno-perfúznych vzťahov. V závislosti od pomeru alveolárnej ventilácie a perfúzie možno rozlíšiť oblasti s nízkym alebo vysokým $\dot{V}_A/\dot{Q}$, pričom ich hraničné stavy predstavujú intrapulmonálny skrat (shunt) a alveolárny mŕtvy priestor.

$\dot{V}_A/\dot{Q} \rightarrow \infty$ (ventilácia bez perfúzie): alveola je ventilovaná, ale nepreteká ňou krv; funkčne sa správa ako alveolárny mŕtvy priestor. Typicky vzniká pri obštrukcii v pľúcnom riečisku (napr. pri pľúcnej embólii) alebo v situácii, keď alveolárny tlak prevyšuje tlak v kapilárach.

$\dot{V}_A/\dot{Q} \rightarrow 0$ (perfúzia bez ventilácie): krv preteká oblasťou, ktorá nie je ventilovaná; ide o skratový (shuntový) typ poruchy. Pri tomto funkčnom pravo-ľavom skrate preteká venózna krv z pravej komory neventilovanými oblasťami pľúc bez účinnej výmeny plynov a následne sa cez pľúcne žily dostáva do ľavej predsiene, kde sa mieša s oxygenovanou krvou z normálne ventilovaných oblastí pľúc (venózna prímes). Tým dochádza k zníženiu oxygenácie arteriálnej krvi. Klinicky je dôležité, že hypoxémia pri skrate sa ťažšie koriguje zvýšením FiO_2 než hypoxémia pri izolovanom $\dot{V}_A/\dot{Q}$ nepomere. V praxi sa pri rozlišovaní týchto mechanizmov hodnotí najmä odpoveď oxygenácie na zvýšenie FiO_2, pričom analýza alveolárneho PO_2 a alveolo-arteriálneho gradientu O_2 poskytuje doplňujúce informácie.

V klinickej praxi sa mŕtvy priestor a skrat zriedkavo vyskytujú ako samostatné formy poruchy výmeny dýchacích plynov. Väčšina patologických stavov je charakterizovaná poruchou ventilačno-perfúznych vzťahov, pri ktorej sa v pľúcach súčasne vyskytujú oblasti s rozdielnymi hodnotami $\dot{V}_A/\dot{Q}$. Ventilačno-perfúzny nepomer ($\dot{V}_A/\dot{Q}$ mismatch) predstavuje jeden z hlavných mechanizmov vzniku hypoxémie pri mnohých pľúcnych ochoreniach (obr. 3).



Obrázok 3 *Schéma znázorňuje ventilačno-perfúzny pomer ($\dot{V}_A/\dot{Q}$) v troch situáciách: skratová perfúzia (nízke $\dot{V}_A/\dot{Q}$), normálny stav ($\dot{V}_A/\dot{Q} \approx 0,8$) a ventilácia mŕtveho priestoru (vysoké $\dot{V}_A/\dot{Q}$). Obrázok ilustruje, ako nesúlad medzi ventiláciou a perfúziou vedie k neefektívnej výmene plynov a nedostatočnej oxygenácii krvi (vlastné spracovanie Mikolka P., 2026).*

Hypoxémia pri ventilačno-perfúznom nepomere vzniká najmä v dôsledku nedostatočnej oxygenácie krvi v pľúcnych jednotkách s nízkym $\dot{V}_A/\dot{Q}$. Oblasti s vysokým $\dot{V}_A/\dot{Q}$ nedokážu tento deficit plne kompenzovať, pretože hemoglobín v krvi pretekajúcej dobre ventilovanými

alveolami je už takmer maximálne saturovaný kyslíkom. Ďalšie zvýšenie alveolárneho a kapilárneho PO_2 preto vedie len k malému zvýšeniu množstva O_2 viazaného na hemoglobín. Celkový obsah kyslíka v arteriálnej krvi je tvorený prevažne kyslíkom viazaným na hemoglobín a iba malou časťou kyslíka fyzikálne rozpusteného v plazme. Za fyziologických podmienok je viac ako 98 % kyslíka v krvi transportovaných vo väzbe na hemoglobín, zatiaľ čo fyzikálne rozpustený O_2 predstavuje len malú časť jeho celkového obsahu. V oblastiach s vysokým $\dot{V}_A/\dot{Q}$ preto ani výraznejší vzostup P_AO_2 nezvyšuje celkový obsah kyslíka v arteriálnej krvi natoľko, aby kompenzoval znížený obsah kyslíka v krvi pritekajúcej z oblastí s nízkym $\dot{V}_A/\dot{Q}$. Tento jav súvisí so sigmoidným tvarom disociačnej krivky oxyhemoglobínu, ktorej horná časť je pri vyšších hodnotách P_AO_2 relatívne plochá.

Na rozdiel od oxygenácie je eliminácia CO_2 vo všeobecnosti menej citlivá na mierny až stredne závažný nepomer $\dot{V}_A/\dot{Q}$. CO_2 má vysokú difúznu schopnosť a vzťah medzi jeho parciálnym tlakom a celkovým obsahom v krvi je v relevantnom fyziologickom rozsahu lineárnejší než pri O_2. Navyše zvýšená ventilácia zachovaných pľúcnych jednotiek môže kompenzovať znížený elimináciu CO_2 z oblastí s nízkym $\dot{V}_A/\dot{Q}$. P_aCO_2 preto môže zostať normálny alebo byť dokonca znížený aj pri významnej poruche $\dot{V}_A/\dot{Q}$. Hyperkapnia sa zvyčajne rozvíja až vtedy, keď kompenzačné zvýšenie alveolárnej ventilácie nestačí na elimináciu metabolicky produkovaného CO_2.

1.3.3 Regionálna distribúcia ventilácie a perfúzie

V stoji sa ventilácia aj perfúzia zvyšujú smerom od apexu k báze pľúc, pričom gradient perfúzie je výraznejší ako gradient ventilácie. Vyššia ventilácia bazálnych oblastí súvisí s tým, že alveoly sú tu pri funkčnej reziduálnej kapacite menej rozopnuté, a preto sa pri nádychu viac rozpínajú než alveoly v apikálnych oblastiach. Ventilačno-perfúzny pomer ($\dot{V}_A/\dot{Q}$) je preto vyšší v apikálnych a nižší v bazálnych oblastiach pľúc. Táto fyziologická heterogenita vedie k regionálnym rozdielom v alveolárnych parciálnych tlakoch O_2 a CO_2.

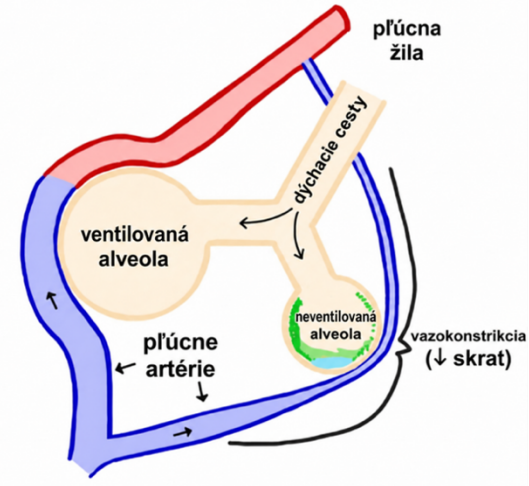
Regionálne rozdiely v pľúcnej perfúzii opisuje koncept Westových zón pľúc, založený na vzájomnom vzťahu medzi alveolárnym tlakom (P_A), tlakom v pľúcnych artériách (P_{pa}) a tlakom v pľúcnych vénach (P_{pv}). Ich vzájomné pomery určujú charakter prietoku krvi v jednotlivých oblastiach pľúc. Tento koncept nadobúda osobitný význam pri zvýšení alveolárneho tlaku, napríklad počas ventilácie pozitívnym tlakom a pri použití PEEP, alebo pri poklese pľúcneho perfúzneho tlaku. Za týchto okolností môže dôjsť k redukcii perfúzie ventilovaných alveol a k zvýšeniu alveolárneho mŕtveho priestoru.

Rozdiel medzi alveolárnym a arteriálnym PO_2 (A–a gradient) je dôležitým ukazovateľom poruchy výmeny plynov. Zvýšený A–a gradient poukazuje najmä na poruchu ventilačno-perfúznych vzťahov, skrat alebo poruchu difúzie, zatiaľ čo normálny A–a gradient pri hypoxémii sa typicky vyskytuje pri alveolárnej hypoventilácii alebo pri zníženom parciálnom tlaku kyslíka vo vdychovanom vzduchu, napríklad vo vysokej nadmorskej výške. Tento koncept umožňuje fyziologickú diferenciáciu mechanizmov respiračnej insuficiencie.

1.3.4 Hypoxická pľúcna vazokonstrikcia

Jedným z kľúčových kompenzačných mechanizmov, ktorými pľúca aktívne zlepšujú $\dot{V}_A/\dot{Q}$, je hypoxická pľúcna vazokonstrikcia (HPV). Pri poklese alveolárneho PO_2 v určitej oblasti pľúc dochádza k vazokonstrikcii malých pľúcnych artérií a arteriol, čím sa znižuje perfúzia nedostatočne ventilovaných jednotiek a krv je presmerovaná do lepšie ventilovaných oblastí. HPV tak znižuje skratovú perfúziu a zlepšuje celkovú oxygenáciu (obr. 4).

Hypoxická pľúcna vazokonstrikcia je ovplyvňovaná viacerými faktormi ako FiO_2, acidóza/alkalóza, niektoré anestetiká či zápalové prostredie. Z klinického hľadiska je dôležité, že pri difúznych pľúcnych procesoch (napr. rozsiahla pneumónia alebo ARDS) môže byť HPV nedostatočná alebo heterogénna, čo prispieva k pretrvávajúcej hypoxémii.



Obrázok 4 *Schéma mechanizmu hypoxickej pľúcnej vazokonstrikcie. Znížený parciálny tlak O_2 v alveolách vyvoláva vazokonstrikciu v priľahlom pľúcnom riečisku. Tým sa obmedzuje perfúzia nedostatočne ventilovaných oblastí a prietok krvi sa smeruje do lepšie ventilovaných častí pľúc, čím optimalizuje ventilačno–perfúzny pomer (upravené podľa Kumar, 2018).*

1.3.5 Klinické koreláty: mŕtvy priestor, skrat a prognóza

Zmeny ventilácie a perfúzie, a tým aj ventilačno-perfúzneho pomeru ($\dot{V}_A/\dot{Q}$), sa priamo premietajú do klinických prejavov porúch výmeny dýchacích plynov.

Pri zvýšení podielu pľúcnych jednotiek s vysokým $\dot{V}_A/\dot{Q}$ narastá alveolárny, a tým aj fyziologický mŕtvy priestor. Časť minútovej ventilácie sa tak nepodieľa efektívne na výmene dýchacích plynov a na udržanie normálneho P_aCO_2 je potrebné zvýšenie celkovej minútovej ventilácie. Zvýšený mŕtvy priestor preto predstavuje prejav neefektívnej ventilácie.

Naopak, zvýšený podiel jednotiek s nízkym $\dot{V}_A/\dot{Q}$ vedie predovšetkým k hypoxémii. Krajným stavom je intrapulmonálny skrat, pri ktorom krv preteká neventilovanými alebo nedostatočne ventilovanými alveolami. S rastúcim podielom skratu sa odpoveď hypoxémie na zvýšenie FiO_2 znižuje. Poruchy $\dot{V}_A/\dot{Q}$ sa klinicky odrážajú aj vo zvýšení alveolo-arteriálneho gradientu O_2 a v odpovedi na oxygenoterapiu.

Pri pľúcnej embólii vedie obmedzenie alebo prerušenie perfúzie ventilovaných oblastí k vzniku jednotiek s vysokým $\dot{V}_A/\dot{Q}$ až k alveolárnemu mŕtvemu priestoru. Súčasná redistribúcia prietoku krvi do nepostihnutých oblastí môže vytvárať aj oblasti s nízkym $\dot{V}_A/\dot{Q}$ a prispievať k hypoxémii. Rozsiahlejšia obštrukcia pľúcneho cievneho riečiska zároveň zvyšuje pľúcnu vaskulárnu rezistenciu.

Priame hodnotenie regionálnej distribúcie $\dot{V}_A/\dot{Q}$ je metodicky náročné, preto sa v klinickej praxi využívajú najmä nepriame ukazovatele. Ventilačno-perfúzna scintigrafia ($\dot{V}/\dot{Q}$ scan) hodnotí regionálnu distribúciu ventilácie a perfúzie a využíva sa najmä v diagnostike pľúcnej embólie. U kriticky chorých pacientov poskytujú informácie o poruche výmeny plynov napríklad pomer P_aO_2/FiO_2, alveolo-arteriálny gradient O_2 a ukazovatele mŕtveho priestoru odvodené z kapnografie a ventilácie. Tieto parametre však hodnotia rozdielne aspekty výmeny dýchacích plynov a samy osebe nepredstavujú priame meranie $\dot{V}_A/\dot{Q}$.

Ventilačno-perfúzny vzťah predstavuje jeden zo základných konceptov respiračnej fyziológie, ktorý prepája alveolárnu ventiláciu, pľúcnu perfúziu a výmenu dýchacích plynov. Určitá heterogenita $\dot{V}_A/\dot{Q}$ je fyziologicky prítomná aj v zdravých pľúcach, pričom patologické stavy ju môžu výrazne prehlbovať a viesť k poruchám oxygenácie a pri závažnejších stavoch aj eliminácie CO_2. Porozumenie ventilačno-perfúznym vzťahom, ich krajným formám, skratu a alveolárnemu mŕtvemu priestoru, regionálnym rozdielom a kompenzačnej úlohe hypoxickej pľúcnej vazokonstrikcie (HPV) tvorí dôležitý základ pre pochopenie mechanizmov respiračného zlyhania

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 1.3

Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.
Hopkins SR. Ventilation/perfusion relationships and gas exchange. Comprehensive Physiology. 2020;10(3):1155–1205.
Glenny RW, Robertson HT. Fractal properties of pulmonary blood flow: characterization of spatial heterogeneity. J Appl Physiol (1985). 1990;69(2):532–545.
Kumar, R. (2018, January 8). Hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) [Diagram]. RK.MD. https://rk.md/2018/hypoxic-pulmonary-vasoconstriction-hpv/
Javorka K et al. Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty. 5. prepracované a doplnené vyd. Martin: Osveta; 2021.
Lumb AB, Slinger P. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: physiology and anesthetic implications. Anesthesiology. 2015;122(4):932–946.
Nuckton TJ et al. Pulmonary dead-space fraction as a risk factor for death in the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2002;346(17):1281–1286.
Petersson J, Glenny RW. Gas exchange and ventilation–perfusion relationships in the lung. Eur Respir J. 2014;44(4):1023–1041.
Robertson HT. Dead space: the physiology of wasted ventilation. Eur Respir J. 2015;45(6):1704–1716.
Sarkar M et al. Mechanisms of hypoxemia. Lung India. 2017;34(1):47–60.
Sylvester JT et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. Physiol Rev. 2012;92(1):367–520.
West JB, Luks AM. West's Respiratory Physiology: The Essentials. 11th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2021.

1.4 Difúzia plynov

Prenos kyslíka z alveol do krvi a oxidu uhličitého opačným smerom sa uskutočňuje difúziou cez alveolokapilárnu membránu. Tento proces je ovplyvnený jej štruktúrou a fyzikálnymi vlastnosťami. Difúzia plynov predstavuje spojovací mechanizmus medzi ventiláciou, perfúziou a výsledným zložením arteriálnej krvi.

Difúzia závisí od efektívnej plochy dostupnej na výmenu plynov, hrúbky a štruktúry alveolokapilárnej membrány, dĺžky kontaktu krvi s alveolárnym plynom, ako aj od vlastností jednotlivých plynov. Tieto faktory sa vo fyziologických aj patologických podmienkach navzájom kombinujú a podieľajú sa na vzniku hypoxémie.

1.4.1 Fickov zákon a determinanty difúzie

Difúzia plynu cez alveolokapilárnu membránu sa riadi Fickovým zákonom. Difúzny tok plynu (množstvo plynu prestupujúceho za jednotku času) je priamo úmerný ploche membrány a rozdielu parciálnych tlakov na oboch stranách membrány a nepriamo úmerný hrúbke membrány. V zjednodušenej podobe možno vzťah vyjadriť:

$$V_{gas} = A \times D \times (P_1 - P_2) / T$$

kde:

V_{gas} je množstvo plynu, ktoré prejde membránou za jednotku času (napr. ml/min)

A je plocha difúznej membrány

D je difúzny koeficient plynu; ide o konštantu, ktorá závisí od rozpustnosti plynu v tkanive a jeho molekulovej hmotnosti; určuje schopnosť difúzie plynu

$P_1 - P_2$ je rozdiel parciálnych tlakov; plyn sa pohybuje z oblasti vyššieho tlaku (P_1) do oblasti nižšieho tlaku (P_2)

T je hrúbka membrány; čím je membrána hrubšia, tým je difúzia pomalšia

Difúzny koeficient D nie je pre každý plyn rovnaký. V biologických membránach je vyšší pre plyny, ktoré sú lepšie rozpustné v tkanive a tekutinách a nižší pre plyny s vyššou molekulovou hmotnosťou. Z toho vyplýva zásadný fyziologický dôsledok, že oxid uhličitý má v tkanivách vyššiu difúznu schopnosť než kyslík, a preto poruchy difúzie typicky vedú najprv k hypoxémii, zatiaľ čo hyperkapnia sa objavuje neskôr alebo pri kombinácii s hypoventiláciou. Ak je primárnym problémom difúzna bariéra (napr. zhrubnutie membrány), hypoxémia môže byť výrazná, zatiaľ čo P_aCO_2 sa môže relatívne dlho držať na fyziologických hodnotách vďaka vyššej difúznej schopnosti CO_2 a kompenzačnej hyperventilácii.

1.4.2 Alveolokapilárna membrána

Alveolokapilárna membrána je funkčné rozhranie medzi alveolárnym plynom a krvou v pľúcnych kapilárach. Jej základnou úlohou je minimalizovať difúznu vzdialenosť pri súčasnom zachovaní mechanickej integrity a bariérovej funkcie pľúc (obr. 5).

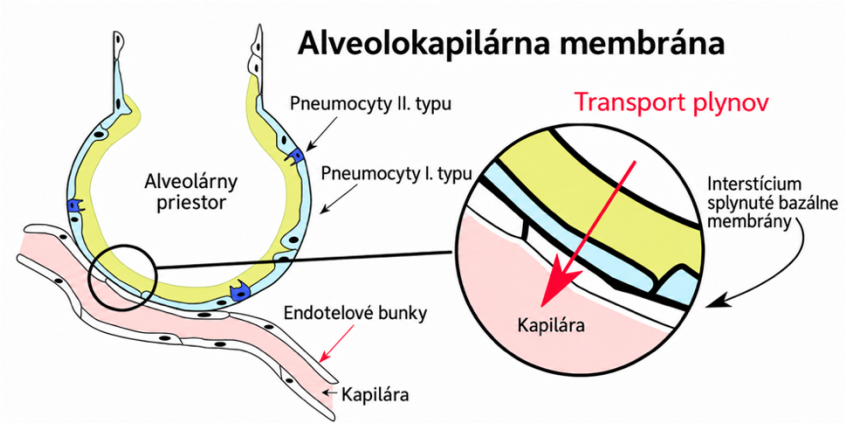
Z fyziologického hľadiska sa alveolokapilárna membrány skladá z viacerých vrstiev, ktoré zahŕňajú:

- surfaktantovú vrstvu
- alveolárny epitel
- intersticiálny priestor
- kapilárny endotel
- vrstvu plazmy pri erytrocyte a samotný erytrocyt

Difúzia kyslíka a oxidu uhličitého teda prebieha cez viaceré vrstvy, z ktorých každá môže ovplyvniť výsledný difúzny odpor. Hrúbka membrány je za fyziologických podmienok minimálna, pričom efektívna výmenná plocha je veľká vďaka vysokému počtu alveol a hustej kapilárnej sieti.

Surfaktantová vrstva pritom nepredstavuje iba mechanickú súčasť alveolárneho rozhrania. Experimentálne údaje naznačujú, že organizované vrstvy pľúcneho surfaktantu môžu urýchľovať difúziu O_2 cez rozhranie vzduch – tekutina a tým prispievať k jeho transportu smerom k alveolokapilárnej membráne.

Ak sa zväčší obsah tekutiny v interstíciu a/alebo v alveolách, napríklad pri pľúcnom edéme, zväčší sa difúzna vzdialenosť a difúzia O_2 sa zhoršuje. Ak sa zmenší výmenná plocha, napríklad pri deštrukcii alveolárnych sept pri emfyzéme, difúzia je obmedzená aj pri nezmenenej hrúbke alveolokapilárnej membrány.



Obrázok 5 *Schematické znázornenie alveolokapilárnej membrány ako rozhrania medzi alveolárnym vzduchom a krvou v pľúcnej kapiláre (upravené podľa Laniece AS., 2018).*

1.4.3 Difúzna kapacita pľúc

V klinickej a experimentálnej fyziológii sa difúzna schopnosť pľúc často vyjadruje pomocou difúznej kapacity (D_L), ktorá súčasne zohľadňuje vplyv plochy, hrúbky bariéry a vlastností plynu. D_L udáva schopnosť pľúc vymieňať plyny, predovšetkým kyslík a oxid uhličitý, medzi alveolárnym vzduchom a krvou v pľúcnych kapilárach. Difúzna kapacita sa definuje ako pomer toku plynu cez membránu k príslušnému tlakovému gradientu:

$$D_L = V_{gas} / \Delta P$$

kde:

D_L je difúzna kapacita; vyjadruje vodivosť (permeabilitu) membrány pre konkrétny plyn

V_{gas} je množstvo plynu, ktoré prejde membránou za jednotku času (napr. ml/min)

ΔP je tlakový rozdiel, ktorý je hnacou silou difúzie; rozdiel medzi parciálnym tlakom plynu v alveolách a v kapilárnej krvi

Pri kyslíku je ΔP v praxi rozdiel medzi alveolárnym parciálnym tlakom O_2 a priemerným kapilárnym parciálnym tlakom O_2 pozdĺž kapiláry, čo je dôvod, prečo je priame meranie D_L pre O_2 náročné. Z praktických dôvodov sa v klinike používa meranie difúznej kapacity pre CO (D_LCO), pretože CO sa za štandardných podmienok viaže na hemoglobín s veľkou afinitou a jeho kapilárny parciálny tlak zostáva prakticky nulový, čím sa zjednodušuje interpretácia. Znížená D_LCO môže odrážať zmenšenie plochy pre difúziu, zväčšenie hrúbky bariéry, pokles objemu krvi v kapilárach alebo pokles koncentrácie hemoglobínu. Na základe toho D_LCO umožňuje rozlíšiť typy pľúcnych ochorení.

Celková difúzna kapacita pľúc nezávisí iba od prestupu plynu cez alveolokapilárnu membránu, ale aj od jeho následnej väzby na hemoglobín v pľúcnej kapilárnej krvi.

- Membránová zložka závisí najmä od plochy a hrúbky alveolokapilárnej membrány a od fyzikálno-chemických vlastností daného plynu.
- Reakčná zložka závisí od množstva hemoglobínu, objemu krvi v kapilárach, rýchlosti chemickej väzby plynu a tiež tlakového gradientu plynov

Z toho vyplýva, že difúzia nie je len pasívny prestup plynu cez tkanivo; najmä pri O_2 významne závisí aj od rýchlosti, akou je O_2 z plazmy viazaný na hemoglobín, čo udržiava koncentračný gradient.

1.4.4 Význam hrúbky a plochy alveolokapilárnej membrány pri difúzii plynov

Fickov zákon ukazuje, že difúzia je mimoriadne citlivá na pomer medzi plochou difúznej membrány (A) a jej hrúbkou (T). Za fyziologických okolností je preto snaha o zachovanie čo najväčšej difúznej plochy a čo najkratšej difúznej dráhy, t.j. čo najtenšej alveolokapilárnej membrány.

Dôležitým faktom je, že difúzia je najcitlivejšia na zmeny membrány v podmienkach, keď je gradient pre O_2 znížený (napr. nízkom alveolárnom P_AO_2). Vtedy aj malé zvýšenie difúzneho odporu môže viesť k významnému poklesu arteriálneho P_aO_2.

Difúzia plynov v pľúcach nie je iba otázkou alveolokapilárnej membrány. V praxi je rozhodujúce, aby bola výmenná plocha skutočne dostupná, aby alveoly zostali otvorené, rovnomerne ventilované a aby sa minimalizovala tendencia ku kolapsu alveol najmä pri nízkych pľúcnych objemoch.

Ak dochádza ku kolapsu alveol alebo k opakovanému otváraniu a zatváraniu alveolárnych jednotiek, plocha pre difúziu sa zmenšuje a regionálna distribúcia ventilácie sa zhoršuje. Tým sa sekundárne zhoršujú aj difúzne podmienky a ventilačno-perfúzne pomery. Stabilita alveolárnej jednotky je preto nepriamym, ale zásadným predpokladom efektívnej difúzie plynov.

1.4.5 Prenos plynov limitovaný z hľadiska difúzie alebo perfúzie

Pri prenose plynov cez alveolokapilárnu membránu rozlišujeme dva typy porúch:

1. Prenos limitovaný difúziou

Ak sa kapilárny parciálny tlak plynu počas prechodu pľúcnou kapilárou nevyrovná jeho alveolárnej hodnote, ide o transport limitovaný difúziou**.** Limitujúcim faktorom je schopnosť

plynu prestúpiť cez alveolokapilárnu membránu v dôsledku zmeny jej vlastností, zmenšenia plochy na výmenu plynov alebo nízkeho tlakového gradientu.

Typickým príkladom je oxid uhoľnatý (CO), ktorý sa silno viaže na hemoglobín, a preto si udržiava nízky kapilárny parciálny tlak. Transport kyslíka môže byť difúzne limitovaný pri zhrubnutí membrány, výraznom zmenšení jej plochy alebo skrátení času kontaktu krvi s alveolárnym plynom.

To vysvetľuje zvýraznenie hypoxémie pri námahe, keď sa v dôsledku zrýchleného prietoku krvi skracuje čas na dosiahnutie rovnováhy medzi alveolárnym a kapilárnym parciálnym tlakom kyslíka.

2. Prenos limitovaný perfúziou

Pri prenose limitovanom perfúziou sa parciálny tlak plynu v kapilárnej krvi rýchlo vyrovná jeho alveolárnemu parciálnemu tlaku. Po dosiahnutí rovnováhy zaniká tlakový gradient potrebný na ďalšiu difúziu. Celkové množstvo preneseného plynu preto závisí od prívodu novej, ešte neekvilibrovanej krvi do pľúcnych kapilár. Zvýšenie perfúzie obnovuje tlakový gradient a zvyšuje celkový prenos plynu.

Za fyziologických podmienok je transport kyslíka prevažne závislý od perfúzie, pretože rovnováha medzi alveolárnym a kapilárnym parciálnym tlakom kyslíka sa v pokoji dosahuje približne v prvej tretine pľúcnej kapiláry.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 1.4

Dempsey JA, Wagner PD. Exercise-induced arterial hypoxemia. J Appl Physiol (1985). 1999;87(6):1997–2006.

Graham BL et al. 2017 ERS/ATS standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. Eur Respir J. 2017;49(1):1600016.

Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.

Hopkins SR. Ventilation/perfusion relationships and gas exchange. Compr Physiol. 2020;10(3):1155–1205.

Hsia CCW. Lung structure and the intrinsic challenges of gas exchange. Compr Physiol. 2016;6(2):827–895.

Hughes JMB, Pride NB. In defense of the carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) and its KCO component. Eur Respir J. 2012;40(6):1320–1323.

Javorka K et al. Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty. 5. prepracované a doplnené vyd. Martin: Osveta; 2021.

Laniece AS. Alveoli-on-a-chip: A close-contact dynamic model of the alveolar capillary barrier: micro-engineering, microfluidics and induced pluripotent stem cells [doctoral thesis]. Grenoble: Université Grenoble Alpes; 2018. https://hal.science/tel-02050336

Levitzky MG. Pulmonary Physiology. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.

Lumb AB. Nunn's Applied Respiratory Physiology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.

MacIntyre N et al. Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung. Eur Respir J. 2005;26(4):720–735.
Olmeda B et al. Pulmonary surfactant layers accelerate O2 diffusion through the air-water interface. Biochim Biophys Acta. 2010;1798(6):1281–1284.
Petersson J, Glenny RW. Gas exchange and ventilation–perfusion relationships in the lung. Eur Respir J. 2014;44(4):1023–1041.
Robertson HT. Dead space: the physiology of wasted ventilation. Eur Respir J. 2015;45(6):1704–1716.

1.5 Povrchové napätie v alveolách

Efektívna výmena plynov v pľúcach predpokladá existenciu stabilnej alveolárnej štruktúry, ktorá poskytuje veľkú difúznu plochu pri minimálnej difúznej vzdialenosti.

Vnútorný povrch alveol je pokrytý tenkou vrstvou tekutiny, ktorá je dôležitá pre integritu epitelu a správnu difúziu plynov a ktorá je v kontakte s alveolárnym vzduchom. Na rozhraní vzduch – tekutina vzniká povrchové napätie, ktoré má tendenciu minimalizovať plochu povrchu a tým podporovať kolaps alveol. Z fyzikálneho hľadiska je povrchové napätie dôsledkom síl pôsobiacich medzi molekulami tekutiny. Vo vnútri kvapaliny sa molekuly vody priťahujú všetkými smermi približne rovnako a suma týchto síl sa rovná nule. Na hranici medzi tekutinou a vzduchom/plynom vyvíjajú molekuly vody silnejší ťah, ako vyvíjajú molekuly susediaceho plynu. V dôsledku toho sú molekuly na povrchu tekutiny sústavne vťahované dovnútra fázy a táto tendencia spôsobuje zmenšovanie povrchu dovtedy, kým nenadobudne najmenšiu možnú plochu. V alveole tento mechanizmus generuje tlak, ktorý pôsobí proti rozvinutiu alveolárnej štruktúry. Tento tlak prispieva k elastickej retrakcii pľúc, teda k ich tendencii zmenšovať svoj objem.

1.5.1 Povrchové napätie ako súčasť retrakčnej sily pľúc

Elastická retrakcia pľúc je výsledkom:

1. elasticity pľúcneho parenchýmu, ktorá je daná štruktúrou kolagénových a elastických vlákien v alveolárnych septách
2. povrchového napätia alveolárnej tekutiny

Experimentálne sa preukázalo, že ak sa pľúca naplnia kvapalinou namiesto vzduchu, odstráni sa rozhranie vzduch – tekutina a výrazne sa redukujú povrchové sily. Poddajnosť pľúc sa tým výrazne zvýši. Na tlakovo-objemovej krivke sa to prejaví výrazným zmenšením hysterézy a strmším priebehom krivky. Z uvedeného vyplýva, že povrchové napätie významne prispieva k elastickému spätnému ťahu pľúc a zvyšuje prácu potrebnú na ich rozvinutie. Významná časť práce vykonanej počas nádychu preto neslúži iba na prekonanie elastických vlastností pľúcneho tkaniva, ale aj povrchových síl vznikajúcich na rozhraní vzduch – tekutina v alveolách.

1.5.2 Laplaceov zákon a tlak v alveole

Vplyv povrchového napätia na tlak v alveole možno vyjadriť pomocou Laplaceovho zákona, ktorý pre sférickú štruktúru vyjadruje vzťah medzi tlakom, povrchovým napätím a polomerom:

$$P = 2T / r$$

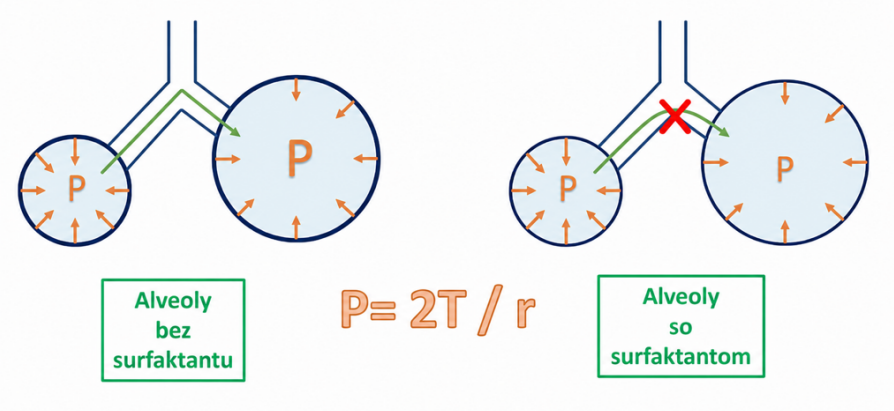
kde:

P je tlak potrebný na udržanie otvorenej alveoly

T je povrchové napätie

r je polomer alveoly

Laplaceov zákon predstavuje zjednodušený fyzikálny model, pretože alveoly nie sú izolované sférické štruktúry, ale sú mechanicky prepojené v rámci pľúcneho parenchýmu. Pri konštantnom povrchovom napätí vyžadujú menšie alveoly na stabilizáciu vyšší tlak než väčšie alveoly (obr. 6). Vzniknutý tlakový gradient podporuje presun plynu z menších alveol do väčších a vedie k postupnému kolapsu menších alveolárnych jednotiek. Dôsledkom je zníženie efektívnej plochy na výmenu plynov a zvýšenie heterogenity ventilácie.



Obrázok 6 *Laplaceov zákon. Tlak (P) vo vnútri gule je priamo úmerný napätiu (T) v stene a nepriamo úmerný polomeru gule (r) (upravené podľa Yahya S. et al., 2023).*

1.5.3 Objemová závislosť a dynamika počas dychového cyklu

Dynamika počas dychového cyklu problém tlakového gradientu ešte zvýrazňuje. Počas exspíria dochádza k poklesu alveolárneho objemu a zmenšeniu polomeru alveoly. Ak by bolo povrchové napätie nemenné, tlak potrebný na udržanie alveoly otvorenej by sa podľa Laplaceovho zákona zvyšoval. To by znamenalo výrazný nárast tendencie ku kolapsu práve pri nízkych objemoch, teda v oblasti funkčnej reziduálnej kapacity.

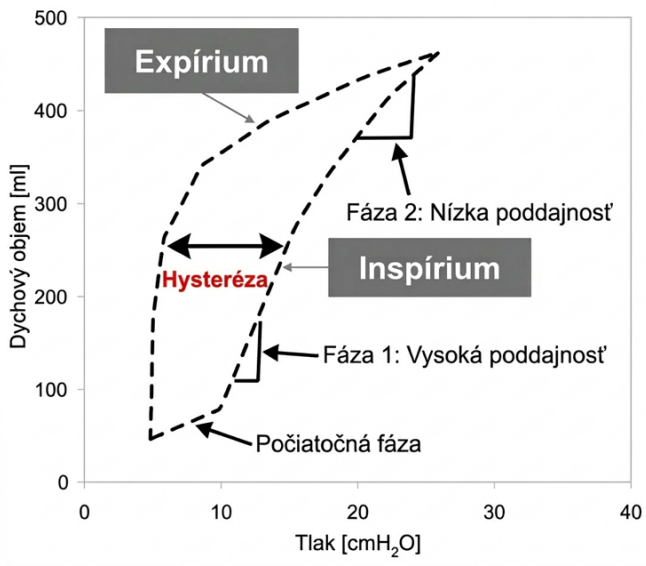
Počas inspíria je situácia opačná, nakoľko rastie polomer alveoly a tlak potrebný na jej stabilizáciu by mal klesať. Mechanika alveoly by tak bola výrazne nelineárna a energeticky náročná.

Tlakovo-objemová krivka

Uvedené fyzikálne súvislosti sa odrážajú v tvare tlakovo-objemovej krivky pľúc. Vzťah medzi transpulmonálnym tlakom a pľúcnym objemom nie je lineárny (obr. 7). Pri nízkych objemoch je poddajnosť pľúc nízka a relatívne veľké zvýšenie tlaku vedie len k malému nárastu objemu. Tento úsek krivky zodpovedá fáze, v ktorej je potrebné prekonať otvárací tlak čiastočne uzavretých alebo nestabilných alveolárnych jednotiek (alveolárny recruitment). Povrchové napätie tu predstavuje významnú zložku elastického odporu a je dominantným faktorom limitujúcim rozvinutie pľúc pri nízkych objemoch.

V strednom rozsahu objemov sa krivka stáva strmšou, poddajnosť je vyššia a ventilácia energeticky efektívnejšia. Väčšina alveol je otvorená, účinok surfaktantu je optimálny a relatívne malé zvýšenie tlaku vedie k výraznejšiemu nárastu objemu. Pri vysokých objemoch sa krivka opäť splošťuje, pretože dochádza k napínaniu elastických a kolagénových štruktúr parenchýmu, čo zvyšuje tkanivové napätie a znižuje poddajnosť. Tvar tlakovo-objemovej krivky je teda výsledkom kombinácie elastických vlastností pľúcneho tkaniva a objemovo závislých zmien povrchového napätia alveol.

Charakteristickým znakom tlakovo-objemovej krivky je hysteréza, teda rozdiel medzi inspiračnou a exspiračnou vetvou krivky (obr. 7). To znamená, že pri rovnakom transpulmonálnom tlaku je objem pľúc počas exspíria väčší než počas inspíria. Tlak potrebný na dosiahnutie určitého objemu je počas inspíria vyšší než tlak potrebný na jeho udržanie počas exspíria. Počas inspíria je potrebné prekonať otvárací tlak na rozvinutie kolabovaných alebo nestabilných alveolárnych jednotiek. V tejto fáze je poddajnosť nižšia a časť práce počas nádychu sa využíva na prekonanie síl generovaných povrchovým napätím. Po otvorení alveol je však tlak potrebný na udržanie objemu nižší, pretože molekuly surfaktantu sa pri zmenšovaní povrchu počas exspíria koncentrujú a znižujú povrchové napätie. Poddajnosť počas exspíria je preto väčšia ako počas inspíria. K rozdielu medzi ramenami krivky prispievajú aj viskoelastické vlastnosti parenchýmu a tzv. relaxácia napätia, pri ktorej časť energie vloženej do natiahnutia tkaniva nie je okamžite uvoľnená ako retrakčná sila.



***Obrázok** 7 Tlakovo-objemová krivka demonštrujúca pľúcnu hysterézu. Znázorňuje vzťah medzi zmenou transpulmonálneho tlaku a dychovým objemom pľúc počas inspíria a exspíria. Krivka počas inspíria má odlišný priebeh než krivka počas exspíria, čím vzniká uzavretá krivka – hysteréza (upravené podľa Kumar R., 2018).*

Hysteréza tlakovo-objemovej krivky poukazuje na rozdielne mechanické správanie pľúc počas rozpínania (inflácie) a zmenšovania ich objemu (deflácie). Podieľajú sa na nej dynamické zmeny povrchového napätia, viskoelastické vlastnosti pľúcneho tkaniva a postupné otváranie a uzatváranie alveol počas dychového cyklu.

1.5.4 Povrchové napätie a dychová práca

Povrchové napätie priamo zvyšuje prácu potrebnú na ventiláciu. Plocha uzavretá tlakovo-objemovou slučkou počas dychového cyklu vyjadruje mechanickú energiu rozpýlenú (disipovanú) v dôsledku hysterézy respiračného systému. Ak je potrebné generovať vyšší transpulmonálny tlak na rozvinutie alveol, zvyšuje sa energetická náročnosť inspíria.

Pri absencii regulačného mechanizmu by bolo dýchanie výrazne náročnejšie, najmä pri nízkych pľúcnych objemoch. To by bolo fyziologicky neefektívne a neudržateľné, najmä u novorodencov, vzhľadom na malý polomer ich alveol, alebo pri ochoreniach znižujúcich poddajnosť pľúc.

1.5.5 Dôsledky alveolárnej nestability

Kolaps alveol vedie k zmenšeniu difúznej plochy, čo podľa Fickovho zákona vedie k poklesu difúzie kyslíka. Súčasne vzniká oblasť s perfúziou bez ventilácie, čím sa zvyšuje podiel funkčného skratu (shunt-like jednotka) a zhoršuje sa ventilačno–perfúzny pomer. Opakované

otváranie a zatváranie alveolárnych jednotiek navyše zvyšuje heterogenitu ventilácie a podporuje regionálny ventilačno-perfúzny nepomer a môže prispievať k mechanickému poškodeniu parenchýmu. Stabilita alveol je preto základným predpokladom rovnomernej distribúcie ventilácie a zachovania efektívnej výmeny plynov. Z toho vyplýva, že povrchové napätie neovplyvňuje len mechaniku, ale nepriamo aj difúziu a ventilačno–perfúzny pomer.

Ak by alveolárny povrch bol vystavený nekontrolovanému povrchovému napätiu, pľúca by boli mechanicky nestabilné, alveoly by mali tendenciu kolabovať pri nízkych objemoch a dychová práca by sa musela výrazne zvyšovať.
Z fyzikálnych princípov preto vyplýva, že dýchací systém musí disponovať mechanizmom, ktorý:

- znižuje povrchové napätie
- moduluje jeho hodnotu v závislosti od alveolárneho objemu
- stabilizuje alveoly rôznych veľkostí
- minimalizuje energetické nároky ventilácie

Takýto stabilizačný mechanizmus v alveolách predstavuje pľúcny surfaktant, ktorý pokrýva rozhranie medzi vzduchom a tekutinou na alveolárnom povrchu. Jeho hlavnou úlohou je znižovať povrchové napätie, čím prispieva k stabilite alveolov, znižuje prácu potrebnú na dýchanie a obmedzuje ich tendenciu ku kolapsu, najmä na konci exspíria. Vďaka svojim špecifickým biofyzikálnym vlastnostiam dokáže surfaktant dynamicky reagovať na zmeny alveolárneho povrchu počas dýchacieho cyklu. Nasledujúca kapitola sa preto podrobnejšie venuje jeho zloženiu, molekulárnej organizácii a funkcii v alveolárnom prostredí.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 1.5

Bates JHT. Lung Mechanics: An Inverse Modeling Approach. Cambridge: Cambridge University Press; 2009.
Boron WF, Boulpaep EL. Medical Physiology. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
Fredberg JJ, Kamm RD. Stress transmission in the lung: pathways from organ to molecule. Annu Rev Physiol. 2006;68:507–541.
Goerke J. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. Biochim Biophys Acta. 1998;1408(2–3):79–89.
Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 14th ed. Philadelphia: Elsevier; 2021.
Javorka K et al. Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty. 5. prepracované a doplnené vyd. Martin: Osveta; 2021.
Kumar R. 2018. Lung Compliance and Hysteresis [online grafika]. RK.MD. [cit. 2026-09-14]. Dostupné na: https://rk.md

Levitzky MG. Pulmonary Physiology. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. New York: Marcel Dekker; 2000.
Pérez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid–protein interactions. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(7–8):1676–1695.
Yahya S et al. 2023. Laplace's Law - Its applications in critical care and peri-operative medicine. In: Journal of Anaesthesia Practice [online]. 22. november 2023 [cit. 2026-09-14]. Dostupné na: https://japractice.co.uk/2023/11/laplaces-law-its-applications-in-critical-care-and-peri-operative-medicine/22616
West JB, Luks AM. West's Respiratory Physiology: The Essentials. 11th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2021.

2 Pľúcny surfaktant

Ako sme uviedli v predchádzajúcej kapitole, objemovo závislá regulácia povrchových síl je základom normálnej mechaniky dýchania. Túto reguláciu zabezpečuje pľúcny surfaktant, špecializovaný povrchovo aktívny systém lokalizovaný na rozhraní vzduch – tekutina v alveolách. Jeho primárnou funkciou je regulácia povrchového napätia. Z hľadiska mechaniky dýchania ide o kľúčový faktor stability alveolárnej štruktúry, poddajnosti pľúc a energetickej náročnosti ventilácie. Pri jeho neprítomnosti by povrchové napätie alveolárnej tekutiny dosahovalo hodnoty blízke hodnotám vody, čo by viedlo k výraznému zvýšeniu retrakčnej sily pľúc, k nestabilite malých alveol a ku kolapsu alveolárnych jednotiek pri nízkych ventilačných objemoch.

V nasledujúcich častiach kapitoly bude podrobne opísané molekulárne zloženie surfaktantu, jeho biosyntéza a bunková sekrécia, usporiadanie na alveolárnom povrchu a mechanizmy, ktorými zabezpečuje objemovo závislú reguláciu povrchového napätia.

2.1 Historický kontext a objav surfaktantu

Koncept povrchového napätia ako zásadného faktora mechaniky pľúc vychádza z fyzikálnych princípov správania sa tekutín na rozhraní vzduch – tekutina. V prvej polovici 20. storočia bolo známe, že na povrchu alveol sa nachádza tenká vrstva tekutiny a že povrchové napätie tejto vrstvy musí významne prispievať k retrakčnej sile pľúc. Už v roku 1929 Kurt von Neergaard v experimente demonštroval, že retrakčná sila prevzdušnených pľúc je výrazne vyššia než pri ich naplnení tekutinou. Tým nepriamo ukázal, že významná časť elastického odporu pľúc nepochádza zo samotného tkaniva, ale z povrchových síl pôsobiacich na rozhraní vzduch – tekutina. Ako bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole pri analýze tlakovo-objemových vzťahov, eliminácia rozhrania vzduch – tekutina zásadne mení mechanické správanie pľúc. Ak je alveolárny priestor vyplnený tekutinou, povrchové sily na alveolárnom povrchu zanikajú a tlakovo-objemová krivka sa výrazne mení (poddajnosť pľúc sa zvyšuje a zmenšuje sa hysteréza). Ak by povrchové napätie na fázovom rozhraní vzduch – tekutina v alveolách dosahovalo hodnoty typické pre čistú vodu, tlak potrebný na udržanie alveol v otvorenom stave by bol podľa Laplaceovho zákona neprimerane veľký, najmä pri alveolách s malým polomerom. Ich mechanická stabilita by preto bola výrazne narušená. Práca Kurta von Neergaarda predstavovala prvý fyzikálny dôkaz úlohy povrchového napätia v mechanike dýchania, hoci jej význam bol plne docenený až o niekoľko desaťročí neskôr.

Kľúčovým posunom v 50. rokoch 20. storočia bolo experimentálne potvrdenie existencie povrchovo aktívnej vrstvy na alveolárnom rozhraní. Richard E. Pattle v roku 1955 poukázal na prítomnosť látky schopnej vytvárať mimoriadne stabilný povrchový film a výrazne znižovať povrchové napätie, čím prispel k vysvetleniu stability alveol. John A. Clements následne pomocou kvantitatívnych meraní povrchového napätia charakterizoval dynamické vlastnosti tejto vrstvy a ukázal, že povrchové napätie sa mení v závislosti od kompresie a expanzie povrchového filmu. Experimentálne merania pomocou Langmuirovej vaničky a neskôr v ďalších desaťročiach aj pomocou surfaktometra so zachytenou bublinou (CBS) ukázali, že pri zmenšení povrchu alveol dochádza k výraznému zníženiu povrchového napätia, zatiaľ čo pri ich rozťahovaní sa povrchové napätie zvyšuje.

Zásadný prelom nastal v roku 1959, keď Mary Ellen Averyová a Jere Mead preukázali, že pľúca novorodencov so syndrómom respiračnej tiesne (RDS) obsahujú výrazne menšie množstvo tejto povrchovo aktívnej zložky. RDS, dovtedy označovaný ako „hyaline membrane disease“, sa tým prvýkrát vysvetlil ako dôsledok zlyhania alveolárnej stability spôsobený nedostatkom surfaktantu. Z fyziologického hľadiska tieto pozorovania potvrdili, že pri nedostatočnom znížení povrchového napätia malé alveoly vyžadujú vysoký otvárací tlak, počas exspíria majú výraznú tendenciu ku kolapsu a ich opakované otváranie vedie k podstatnému zvýšeniu dychovej práce.

V nasledujúcich desaťročiach sa experimentálny výskum sústredil na detailnú analýzu zloženia a funkcie pľúcneho surfaktantu. Bengt Robertson významne prispel k pochopeniu jeho fyziologickej úlohy pri stabilizácii alveolárneho systému využitím experimentálnych modelov surfaktantovej insuficiencie. John A. Clements svojimi biofyzikálnymi štúdiami zásadne prispel k charakterizácii povrchových vlastností pľúcneho surfaktantu, zatiaľ čo Tetsuro Fujiwara neskôr rozvinul koncepciu jeho substitúcie v klinickej praxi úspešným zavedením exogénneho surfaktantu do liečby novorodencov. Ich práce spolu s ďalšími experimentálnymi štúdiami ukázali, že surfaktant nemožno chápať len ako biochemickú zložku alveolárneho povrchu, ale ako funkčný systém nevyhnutný pre mechanickú stabilitu pľúc. Neskorší vývoj syntetických a polosyntetických surfaktantov, ku ktorému popri Johnovi A. Clementsovi (vynálezcovi prvého schváleného syntetického surfaktantu Exosurf) významne prispeli Tore Curstedt a Jan Johansson, rozšíril pochopenie molekulárnych mechanizmov účinku surfaktantových proteínov, najmä SP-B a SP-C. Tieto výskumy zároveň ukázali, že stabilita alveol nie je daná len samotnou prítomnosťou surfaktantu, ale presným usporiadaním jeho molekúl na alveolárnom povrchu.

Historický vývoj výskumu surfaktantu tak predstavuje modelový príklad postupného prepojenia fyziky, experimentálnej fyziológie a klinickej medicíny. Od von Neergaardových mechanických experimentov cez Clementsove merania povrchového napätia až po klinické definovanie RDS Averyovou a Meadom sa postupne tvoril ucelený obraz pľúcneho surfaktantu ako nevyhnutnej súčasti stabilného alveolárneho systému.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.1

Curstedt T, Johansson J. New synthetic surfactant—how and when? Biol Neonate. 2006;89(4):336–339.

Halliday HL. History of surfactant from 1980. Pediatr Pulmonol. 2005;39(4):292–296.

Halliday HL. Surfactants: past, present and future. J Perinatol. 2008;28(Suppl 1):S47–S56.

Hallman M et al. Historical perspective on surfactant therapy: Transforming hyaline membrane disease to respiratory distress syndrome. Semin Fetal Neonatal Med. 2023;28(6):101385.

Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. New York: Marcel Dekker; 2000.

Obladen M. History of surfactant up to 1980. Biol Neonate. 2005;87(4):308–316.

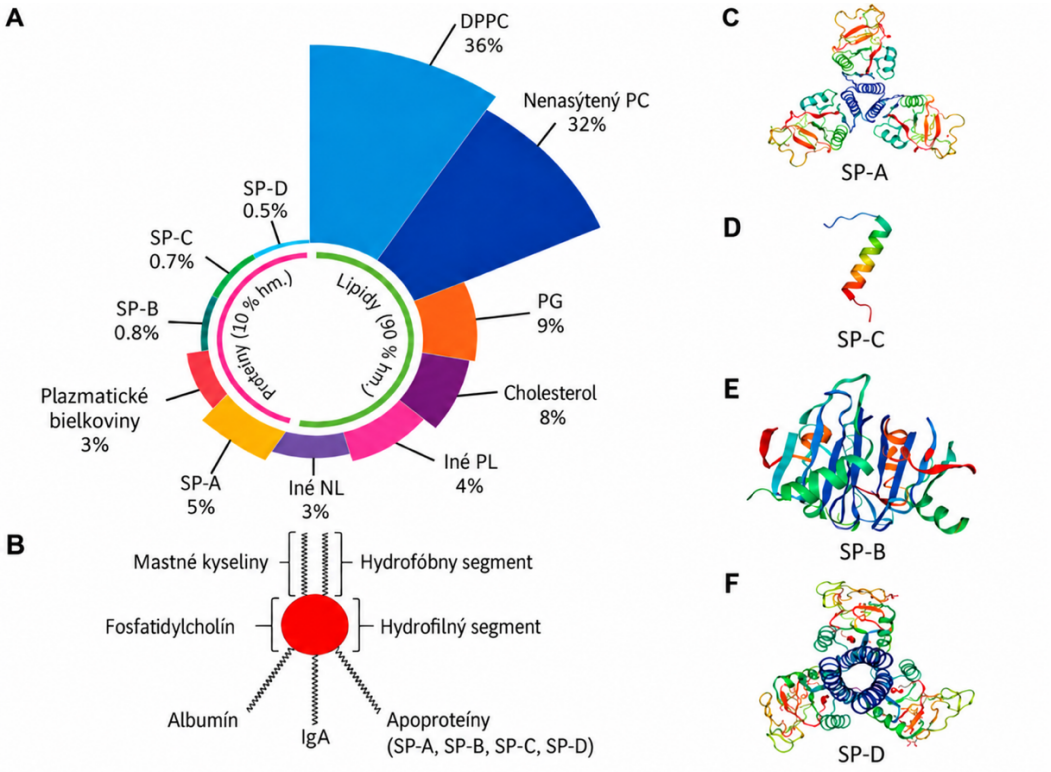
Pérez-Gil J. A recipe for a good clinical pulmonary surfactant. Biomed J. 2022;45(4):615–628.

Zuo YY et al. Current perspectives in pulmonary surfactant—Inhibition, enhancement and evaluation. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(10):1947–1977.

2.2 Molekulárne zloženie pľúcneho surfaktantu

Pľúcny surfaktant je vysoko organizovaný lipoproteínový komplex produkovaný pneumocytmi II. typu. Jeho účinok je podmienený presným kvantitatívnym pomerom lipidových a proteínových zložiek a ich usporiadaním do funkčných supramolekulárnych štruktúr.

Z hľadiska hmotnostného zloženia tvorí približne 85–90 % surfaktantu lipidová frakcia, zatiaľ čo proteínová zložka predstavuje približne 10–15 % (obr. 8). Funkčne však ide o vysoko integrovaný systém, v ktorom lipidy zabezpečujú primárnu biofyzikálnu aktivitu a proteíny umožňujú rýchlu adsorpciu, reorganizáciu a stabilitu surfaktantového filmu počas dychového cyklu.



Obrázok 8 *Zloženie a molekulárna organizácia pľúcneho surfaktantu(PS). (A) Relatívne percento rôznych zložiek v PS; (B) reprezentatívna štruktúra PS; (C) molekulárne znázornenie surfaktantového proteínu (SP)-A; (D) molekulárne znázornenie SP-C; (E) molekulárne znázornenie SP-B; (F) molekulárne znázornenie SP-D. DPPC, dipalmitoylfosfatidylcholín; NL, neutrálny lipid; PC, fosfatidylcholín; PG, fosfatidylglycerol; PL, fosfolipid; SP, surfaktantový proteín (upravené podľa Wang et al., 2021).*

2.2.1 Lipidová zložka surfaktantu

Lipidová frakcia predstavuje dominantnú štrukturálnu aj funkčnú zložku pľúcneho surfaktantu. Jej hlavnou úlohou je zabezpečiť zníženie povrchového napätia na rozhraní vzduch – tekutina

v alveolách na hodnoty, ktoré umožňujú stabilitu alveol počas celého dychového cyklu. Táto schopnosť vyplýva z prítomnosti presne regulovanej kombinácie lipidov s rozdielnymi fyzikálno-chemickými vlastnosťami, ktoré sa organizujú do dynamického a funkčne adaptabilného systému.

Lipidy tvoria približne 85–90 % hmotnosti surfaktantu, pričom prevažnú časť, približne 75–80 % celkovej hmotnosti surfaktantu predstavujú fosfolipidy. Neutrálne lipidy, predovšetkým cholesterol, tvoria približne 5–10 %. Zvyšok pripadá na minoritné lipidové zložky vrátane lyzofosfolipidov a stopových sfingolipidov. Takéto zloženie je výrazne odlišné od typických biologických membrán, ktoré obsahujú vyšší podiel nenasýtených fosfolipidov a väčší obsah cholesterolu. Surfaktant je teda špecializovaným lipidovým systémom optimalizovaným pre funkciu na rozhraní dvoch fáz.

Dominantné postavenie dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC)

DPPC tvorí približne 40–50 % všetkých fosfolipidov pľúcneho surfaktantu a predstavuje jeho hlavný povrchovo aktívny lipid. Ide o fosfatidylcholín obsahujúci dva plne nasýtené palmitoylové reťazce (16:0/16:0). Absencia dvojitých väzieb umožňuje tesné laterálne usporiadanie molekúl, čím sa DPPC výrazne odlišuje od nenasýtených fosfolipidov s menej pravidelnou organizáciou acylových reťazcov.

Pre jeho funkciu je významná aj relatívne vysoká teplota fázového prechodu. Vďaka kombinácii plne nasýtených acylových reťazcov a schopnosti vytvárať tesne usporiadané lipidové štruktúry je DPPC kľúčovou zložkou umožňujúcou surfaktantovému filmu dosahovať veľmi nízke hodnoty povrchového napätia pri kompresii.

Samotný DPPC však reaguje na dynamické zmeny alveolárnej plochy pomalšie a jeho adsorpcia a rozprestieranie na rozhraní vzduch – tekutina sú obmedzené. Preto jeho funkcia závisí od prítomnosti ďalších fosfolipidov a hydrofóbnych surfaktantových proteínov, ktoré zvyšujú fluiditu filmu, podporujú adsorpciu a umožňujú jeho rýchlu reorganizáciu počas dychového cyklu. DPPC tak poskytuje základ pre dosiahnutie veľmi nízkeho povrchového napätia, avšak jeho účinok sa naplno prejavuje až v súčinnosti s ostatnými zložkami surfaktantu. Fázové správanie DPPC a jeho úloha pri vzniku kondenzovaných lipidových domén sú podrobnejšie opísané v kapitole 2.5.3.

Úloha nenasýtených fosfolipidov

Popri DPPC obsahuje surfaktant významné množstvo nenasýtených fosfatidylcholínov a ďalších fosfolipidov, najmä fosfatidylglycerol, fosfatidylinozitol a fosfatidyletanolamín. Tieto

molekuly majú nižšiu teplotu fázového prechodu a vyššiu laterálnu fluiditu. Ich prítomnosť zabezpečuje, že surfaktantový film nie je rigidnou štruktúrou, ale dynamickým systémom schopným adaptácie počas cyklickej kompresie a expanzie.

Fosfatidylglycerol (PG) má veľký význam pre funkciu surfaktantu a zároveň je zaujímavý z vývojového hľadiska. Jeho koncentrácia sa výrazne zvyšuje v neskorých štádiách fetálneho vývoja paralelne s dozrievaním alveolárnych buniek typu II. Prítomnosť PG v amniovej tekutine sa preto dlhodobo využívala ako spoľahlivý biochemický marker pľúcnej zrelosti plodu. Z funkčného hľadiska PG prispieva k stabilite a organizácii surfaktantového systému. Ako aniónový fosfolipid ovplyvňuje elektrostatické interakcie v rámci lipidovej vrstvy a podporuje tvorbu a stabilizáciu organizovaných extracelulárnych štruktúr surfaktantu, vrátane tubulárneho myelínu. Súčasne zlepšuje interakciu fosfolipidovej matrice s hydrofóbnymi surfaktantovými proteínmi (najmä SP-B a SP-C), čím podporuje správnu reorganizáciu a funkčnú integritu surfaktantového filmu počas dychového cyklu.

Cholesterol ako modulátor mechanických vlastností

Cholesterol tvorí približne 5–10 % lipidovej frakcie surfaktantu. Plní regulačnú úlohu, ktorá závisí od koncentrácie. Pri fyziologických koncentráciách cholesterol prispieva k optimalizácii tekutosti lipidovej vrstvy, čím zabraňuje nadmernej rigidite kondenzovaných DPPC-domén. Tým podporuje rovnováhu medzi stabilitou a flexibilitou filmu.

Pri zvýšenom obsahu však cholesterol narúša tesné usporiadanie nasýtených fosfolipidov (DPPC), čím obmedzuje tvorbu stabilnej kondenzovanej fázy pri kompresii povrchu (exspíriu) a zhoršuje dynamické vlastnosti surfaktantu. Dôsledkom je zvýšenie minimálne dosiahnuteľného povrchového napätia a zhoršenie schopnosti surfaktantového filmu efektívne reagovať na cyklické zmeny povrchu alveol počas dýchania. Experimentálne modely akútneho poškodenia pľúc ukázali, že zmenený pomer cholesterolu v surfaktante môže prispievať k jeho funkčnej dysregulácii a predstavovať jeden z mechanizmov surfaktantovej dysfunkcie.

Funkčný význam jednotlivých lipidových zložiek sa naplno prejavuje v ich dynamickom usporiadaní na alveolárnom rozhraní počas dychového cyklu. Fázové správanie lipidov, kompresia a opätovné rozprestieranie surfaktantového filmu sú podrobnejšie opísané v kapitole 2.5.

2.2.2 Proteínová zložka surfaktantu

Proteínová frakcia surfaktantu predstavuje približne 10 % jeho celkovej hmotnosti, avšak jej funkčný význam je oveľa väčší než by naznačoval kvantitatívny podiel. Kým lipidy tvoria základnú štruktúru filmu a sú zodpovedné za samotné zníženie povrchového napätia, surfaktantové proteíny zabezpečujú organizáciu, stabilitu, dynamiku a imunologickú ochranu alveolárneho prostredia.

Proteínová zložka surfaktantu plní tri základné úlohy:

1. biofyzikálnu organizáciu lipidového filmu (SP-B, SP-C)
2. stabilizáciu a dynamiku počas dychového cyklu
3. imunologickú ochranu alveolárneho prostredia (SP-A, SP-D)

Boli identifikované štyri hlavné surfaktantové proteíny: SP-A, SP-B, SP-C a SP-D. Z funkčného hľadiska sa delia na dve skupiny:

- hydrofilné proteíny (SP-A, SP-D) – zapojené najmä do vrodenej imunity a regulácie zápalu
- hydrofóbne proteíny (SP-B, SP-C) – primárne zodpovedné za biofyzikálne vlastnosti surfaktantu

2.2.2.1 Hydrofilné surfaktantové proteíny

Na rozdiel od hydrofóbnych surfaktantových proteínov hydrofilné SP-A a SP-D neovplyvňujú priamo povrchové napätie, ale sú kľúčové pre imunitu a reguláciu zápalovej odpovede.

Surfaktantový proteín A (SP-A)

SP-A je najviac zastúpený surfaktantový proteín. Patrí do rodiny kolektínov a obsahuje kolagénovú doménu a lektínovú doménu (viažucu karbohydrát). V extracelulárnom priestore sa organizuje do oligomérnych štruktúr.

Medzi jeho funkcie patrí:

- rozpoznávanie a väzba sacharidových štruktúr na povrchu mikroorganizmov
- opsonizácia patogénov
- modulácia aktivity alveolárnych makrofágov
- regulácia tvorby tubulárneho myelínu

SP-A sa zároveň podieľa na regulácii sekrécie surfaktantu pneumocytmi II. typu prostredníctvom negatívnej spätnej väzby a moduláciou imunitnej odpovede prispieva k udržiavaniu homeostázy alveolárneho prostredia.

Surfaktantový proteín D (SP-D)

SP-D je štruktúrne podobný SP-A a rovnako patrí medzi kolektíny. Je významný najmä pri obrane proti vírusovým a bakteriálnym patogénom. Viaže sa na povrchové štruktúry mikroorganizmov, podporuje ich fagocytózu a moduluje zápalovú odpoveď.
Hoci SP-D nemá priamy vplyv na biofyzikálne vlastnosti surfaktantu, jeho úloha je zásadná pre ochranu alveolárneho prostredia pred infekciou a zápalom.

2.2.2.2 Hydrofóbne surfaktantové proteíny

Hydrofóbne proteíny SP-B a SP-C sú esenciálne pre správnu funkciu lipidovej zložky. Bez ich prítomnosti by samotné fosfolipidy neboli schopné vytvoriť dostatočne stabilný a dynamický film.

Surfaktantový proteín B (SP-B)

SP-B je malý, silne hydrofóbny proteín vznikajúci proteolytickým spracovaním väčšieho prekurzora (proSP-B) v lamelárnych telieskach pneumocytov II. typu. Patrí do rodiny sapozínových proteínov a jeho terciárna štruktúra je stabilizovaná disulfidovými mostíkmi. Táto štruktúra mu umožňuje interagovať s lipidovými membránami a modulovať ich usporiadanie.
Z funkčného hľadiska je SP-B nevyhnutný pre:

- transport fosfolipidov z multilamelárnych agregátov na rozhranie vzduch – tekutina
- reorganizáciu lipidových vrstiev počas kompresie a expanzie
- tvorbu a stabilizáciu tubulárneho myelínu

SP-B pôsobí ako „organizátor“ lipidového systému. Umožňuje, aby sa lipidy správne preskupovali, prechádzali medzi vrstvami a rýchlo sa zaradili do monovrstvy počas každého dychového cyklu.
Geneticky podmienený deficit SP-B vedie k fatálnemu respiračnému zlyhaniu u novorodencov v dôsledku závažnej poruchy adsorpcie lipidov a nestability surfaktantového filmu, čo podčiarkuje jeho nezastupiteľnú úlohu pre správnu funkciu pľúc.

Surfaktantový proteín C (SP-C)

SP-C je extrémne hydrofóbny, malý proteín, ktorý v aktívnej forme tvorí transmembránový α-helix stabilne asociovaný s lipidovou dvojvrstvou. Jeho sekvencia je bohatá na hydrofóbne aminokyseliny, čo umožňuje pevné zakotvenie medzi lipidmi.

Hlavnou úlohou SP-C je podporovať rýchlu adsorpciu a stabilitu filmu počas dynamických zmien plochy. Počas inspíria, keď sa plocha rozhrania zväčšuje, SP-C napomáha redistribúcii lipidov a ich opätovnému rozptýleniu (respreading). Počas exspíria sa podieľa na stabilizácii tekutých domén, čím bráni fragmentácii filmu.

Na rozdiel od SP-B nie je absencia SP-C bezprostredne letálna, avšak mutácie génu pre SP-C sú spojené s intersticiálnymi pľúcnymi ochoreniami a poruchou homeostázy alveolárneho prostredia.

2.2.2.3 Molekulárna interakcia SP-B a SP-C s DPPC

Funkcia pľúcneho surfaktantu nevychádza z izolovaného pôsobenia jednotlivých zložiek, ale z ich koordinovanej interakcie. DPPC poskytuje lipidový základ, ktorý umožňuje vytváranie tesne usporiadaných oblastí schopných dosahovať veľmi nízke povrchové napätie. Samotný DPPC však nemá dostatočnú dynamiku na rýchlu obnovu a reorganizáciu surfaktantového filmu.

Hydrofóbne proteíny SP-B a SP-C umožňujú, aby sa biofyzikálne vlastnosti DPPC uplatnili aj v dynamických podmienkach alveolárneho rozhrania. SP-B podporuje adsorpciu a transport fosfolipidov, fúziu lipidových membrán a výmenu materiálu medzi povrchovou vrstvou a subpovrchovými štruktúrami. SP-C prispieva k organizácii lipidových membrán, stabilite filmu a jeho schopnosti reagovať na zmeny plochy rozhrania.

Výsledkom koordinovaného pôsobenia DPPC, SP-B a SP-C je surfaktantový systém, ktorý kombinuje schopnosť dosahovať veľmi nízke povrchové napätie so schopnosťou rýchlej adsorpcie, reorganizácie a obnovy povrchového filmu. Podrobné mechanizmy dynamického správania surfaktantu počas dychového cyklu sú uvedené v kapitole 2.5.

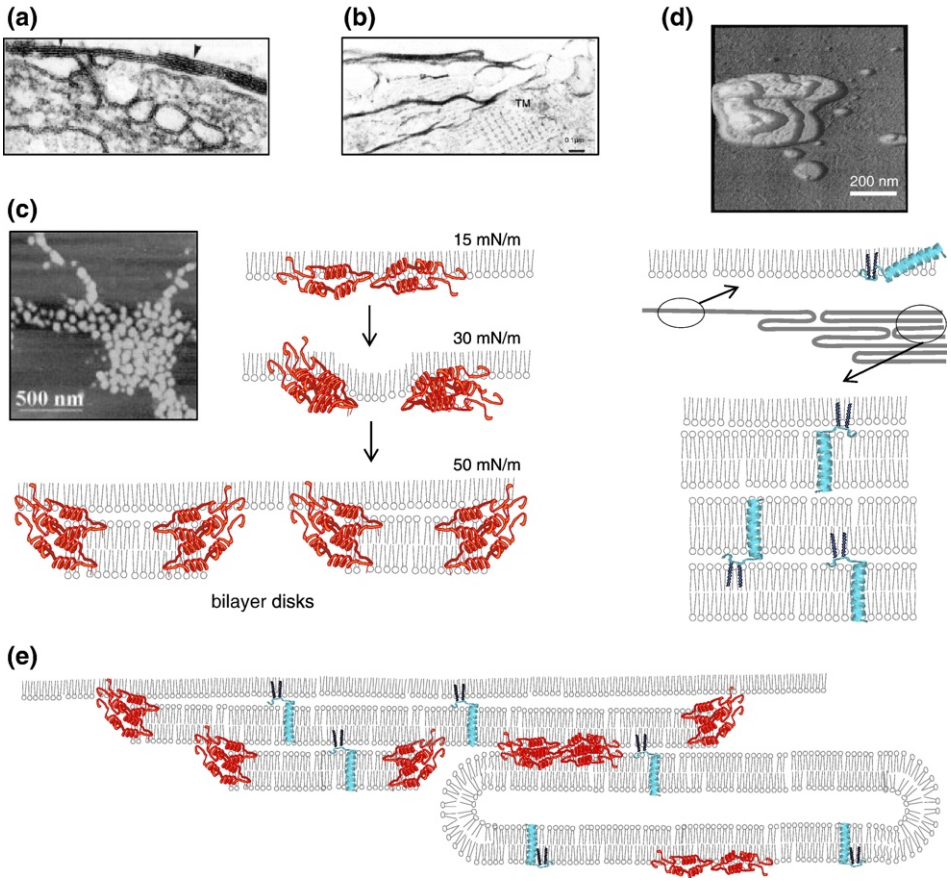
Integrovaná funkcia DPPC, SP-B a SP-C

Počas výdychu sa DPPC koncentruje v kondenzovaných doménach, ktoré umožňujú dosiahnuť veľmi nízke povrchové napätie. SP-B, ktorý sa označuje aj ako facilitátor reorganizácie a transportu lipidov, stabilizuje vertikálne prepojenie medzi monovrstvou a multilamelárnym

rezervoárom. SP-C, označovaný ako stabilizátor tekutých domén, zabezpečuje laterálnu elasticitu a dynamickú integritu filmu. Výsledkom tejto spolupráce je systém, ktorý:

- rýchlo sa adsorbuje na rozhranie
- odoláva opakovanej kompresii
- udržiava extrémne nízke povrchové napätie pri nízkych objemoch
- dokáže sa okamžite reorganizovať pri expanzii (nádychu)

DPPC poskytuje fyzikálny základ zníženia povrchového napätia, SP-B umožňuje efektívnu reorganizáciu a transport lipidov a SP-C zabezpečuje dynamickú stabilitu počas respiračného cyklu. Iba ich koordinovaná interakcia vytvára plne funkčný surfaktantový systém (obr. 9).



Obrázok 9 *Štruktúra viacvrstvového povrchového filmu surfaktantu. Obrázok znázorňuje surfaktant ako dynamicky organizovaný viacvrstvový systém, v ktorom sú fosfolipidy, najmä DPPC, a hydrofóbne proteíny SP-B a SP-C funkčne prepojené. (a, b) Po adsorpcii vzniká povrchová monovrstva bohatá na DPPC a lipidový rezervoár v hypofáze; pri kompresii DPPC vytvára kondenzované domény umožňujúce nízke povrchové napätie. (c) SP-B podporuje reorganizáciu a presun lipidov do povrchovej vrstvy. (d) SP-C stabilizuje viacvrstvové usporiadanie počas kompresie. (e) Integrovaný model ukazuje synergický mechanizmus, v ktorom DPPC znižuje povrchové napätie, SP-B sprostredkuje reorganizáciu lipidov a SP-C stabilizuje viacvrstvovú architektúru (Pérez-Gil J., 2008).*

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.2

Baoukina S, Tieleman DP. Direct simulation of protein-mediated vesicle fusion: lung surfactant protein B. Biophys J. 2010;99(7):2134–2142.
Bernhard W. Lung surfactant: function and composition in the context of development and respiratory physiology. Ann Anat. 2016;208:146–150.
Cañadas O et al. Lipid–protein and protein–protein interactions in the pulmonary surfactant system and their role in lung homeostasis. Int J Mol Sci. 2020;21(10):3708.
Goerke J. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. Biochim Biophys Acta. 1998;1408(2–3):79–89.
Hall SB et al. Importance of hydrophobic apoproteins as constituents of clinical exogenous surfactants. Am Rev Respir Dis. 1992;145(1):24–30.
Liekkinen J et al. Surfactant proteins SP-B and SP-C in pulmonary surfactant monolayers: physical properties controlled by specific protein–lipid interactions. Langmuir. 2023;39(12):4338–4350.
Martínez-Calle M et al. Pulmonary surfactant protein SP-B nanorings induce the multilamellar organization of surfactant complexes. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2020;1862(3):183216.
Nogee LM et al. A mutation in the surfactant protein B gene responsible for fatal neonatal respiratory disease. J Clin Invest. 1994;93(4):1860–1863.
Pérez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid–protein interactions. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(7–8):1676–1695.
Pérez-Gil J, Weaver TE. Pulmonary surfactant pathophysiology: current models and open questions. Physiology (Bethesda). 2010;25(3):132–141.
Schiffer K et al. Interaction of surfactant protein B with hydrophobic and hydrophilic components of pulmonary surfactant. Biochemistry. 1993;32(23):5907–5914.
Taneva SG, Keough KMW. Pulmonary surfactant proteins SP-B and SP-C in spread monolayers at the air–water interface. Biophys J. 1994;66(4):1149–1157.
Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Role of pulmonary surfactant components in surface film formation and dynamics. Biochim Biophys Acta. 2000;1467(2):255–270.
Veldhuizen RAW et al. The role of lipids in pulmonary surfactant. Biochim Biophys Acta. 1998;1408(2–3):90–108.
Wang S et al. The Role of Pulmonary Surfactants in the Treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome in COVID-19. Front Pharmacol. 2021;12:698905.
Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. Nat Rev Immunol. 2005;5(1):58–68.

2.3 Biosyntéza, sekrécia a degradácia pľúcneho surfaktantu

V alveolárnom prostredí je surfaktant dynamickým systémom, ktorý kontinuálne podlieha syntéze, sekrécii, reorganizácii, spätnému vychytávaniu a degradácii. Jeho biologická účinnosť preto nezávisí len od presného pomeru lipidov a proteínov, ale aj od správneho fungovania mechanizmov, ktoré zabezpečujú jeho obnovu a homeostázu.

Hlavnú úlohu v tomto procese zohráva alveolárny pneumocyt II. typu. Táto vysoko špecializovaná epitelová bunka produkuje všetky hlavné surfaktantové lipidy a proteíny a zároveň zabezpečuje recykláciu a reguláciu surfaktantu v alveole. V cytoplazme prebieha intenzívna syntéza fosfolipidov, produkcia prekurzorov surfaktantových proteínov a ich spracovanie na aktívne formy. Výsledkom týchto procesov je tvorba lamelárnych teliesok, špecializovaných sekrečných organel, ktoré slúžia ako intracelulárna zásobáreň surfaktantu.

Po exocytóze do alveolárneho priestoru sa surfaktant reorganizuje do extracelulárnych štruktúr, z ktorých časť vytvára funkčný film na rozhraní vzduch – tekutina a časť zostáva v hypofáze ako rezervoár pre ďalšie respiračné cykly. Tento systém je neustále obnovovaný prostredníctvom spätného vychytávania zložiek surfaktantu pneumocytmi II. typu a ich následnej recyklácie alebo degradácie. Významnú úlohu v katabolizme surfaktantu zohrávajú aj alveolárne makrofágy.

Homeostáza surfaktantu je výsledkom rovnováhy medzi:

- syntézou a sekréciou
- reorganizáciou na rozhraní vzduch-tekutina
- spätným vychytávaním a recykláciou
- degradáciou a odstránením poškodených zložiek surfaktantu

Zlyhanie ktoréhokoľvek z týchto mechanizmov vedie k zmene množstva alebo funkčných vlastností surfaktantu a môže iniciovať rozvoj patofyziologických procesov.

2.3.1 Syntéza lipidovej zložky

Alveolárny pneumocyt II. typu je metabolicky vysoko aktívna bunka, ktorej jednou z hlavných funkcií je syntéza surfaktantových fosfolipidov. V porovnaní s inými bunkami pľúcneho epitelu vykazuje výrazne zvýšenú kapacitu pre *de novo* syntézu fosfatidylcholínu, remodeláciu mastných kyselín a tvorbu špecifických lipidových druhov charakteristických pre surfaktant, predovšetkým dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC).

Syntéza fosfatidylcholínu

Základnou metabolickou dráhou syntézy fosfatidylcholínu (PC) je tzv. Kennedyho cesta (CDP-cholínová dráha). Tento proces prebieha prevažne v endoplazmatickom retikule a pozostáva z troch hlavných krokov:

1. fosforylácia cholínu na fosfocholín
2. tvorba CDP-cholínu (cytidíndifosfát-cholín) katalyzovaný CTP:fosfocholín cytidylyltransferázou (CCT)
3. prenos fosfocholínovej skupiny na diacylglycerol za vzniku fosfatidylcholínu (PC)

Dôležitým regulačným enzýmom tejto dráhy je CCT, pretože práve jeho aktivita určuje rýchlosť syntézy fosfatidylcholínu, a tým aj dostupnosť hlavnej lipidovej zložky pľúcneho surfaktantu. Aktivita CCT je ovplyvnená fyzikálno-chemickými vlastnosťami membrán endoplazmatického retikula (napr. obsahom diacylglycerolu a nenasýtených fosfolipidov) a dostupnosťou substrátov. Tento mechanizmus umožňuje pneumocytu II. typu flexibilne regulovať produkciu surfaktantu podľa aktuálnej potreby.

Špecifická tvorba dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC)

Hoci Kennedyho dráha vedie k produkcii rôznych druhov fosfatidylcholínu, surfaktant je charakteristický vysokým zastúpením plne nasýteného DPPC (16:0/16:0). Vznik DPPC preto zahŕňa aj proces tzv. remodelácie acylových reťazcov, ktorý prebieha prostredníctvom Landsovho cyklu. V tomto procese:

- dochádza k čiastočnej deacylácii fosfatidylcholínu za vzniku lyzofosfatidylcholínu
- následne je pomocou špecifických acyltransferáz opätovne esterifikovaný palmitát (16:0)

Výsledkom je selektívne obohatenie surfaktantu o nasýtené fosfolipidové molekuly, ktoré vďaka svojej štruktúre zabezpečujú optimálne biofyzikálne vlastnosti na rozhraní vzduch – tekutina.

Z metabolického hľadiska predstavuje významný zdroj palmitátu aj *de novo* syntéza mastných kyselín z acetyl-CoA, ktorá je v pneumocytoch II. typu aktívna. Intenzita lipogenézy tak priamo ovplyvňuje dostupnosť nasýtených acylových reťazcov pre syntézu DPPC a tým aj schopnosť bunky produkovať plne funkčný surfaktant.

Syntéza fosfatidylglycerolu

Fosfatidylglycerol (PG), druhý najvýznamnejší surfaktantový fosfolipid, vzniká z fosfatidylglycerolfosfátu, ktorý je syntetizovaný z CDP-diacylglycerolu. Zvýšenie produkcie PG je charakteristické pre neskoré štádiá vývoja plodu a je súčasťou procesu funkčnej maturácie pľúc.

Regulácia syntézy PG je hormonálne podmienená, pričom významnú úlohu zohrávajú glukokortikoidy, tyreoidálne hormóny a katecholamíny. Tieto hormóny zvyšujú expresiu enzýmov zapojených do biosyntézy lipidov a podporujú proces diferenciácie pneumocytov II. typu.

Intracelulárna organizácia syntézy surfaktantových lipidov

Syntéza surfaktantových fosfolipidov v pneumocytoch II. typu je priestorovo presne organizovaná a funkčne prepojená s transportom a ukladaním lipidov do špecializovaných sekrečných organel – lamelárnych teliesok. Táto intracelulárna organizácia je nevyhnutná na zabezpečenie produkcie surfaktantu vo veľkom množstve a zároveň na zachovanie špecifického molekulového profilu surfaktantu.

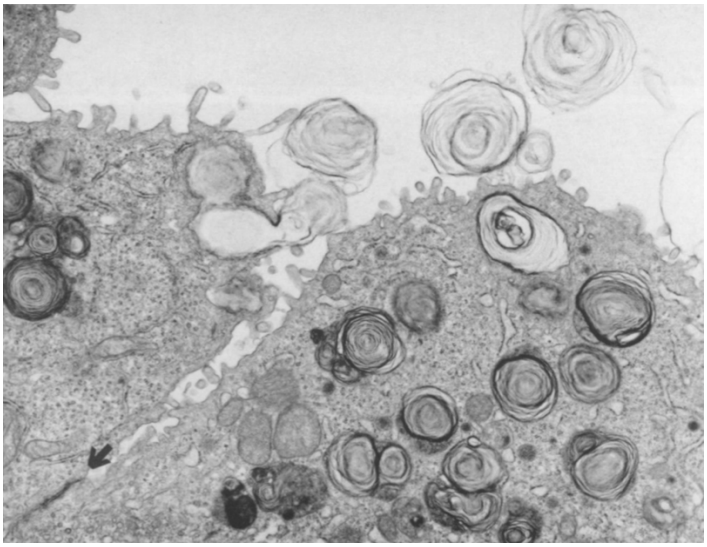
Endoplazmatické retikulum (ER) je hlavné miesto syntézy fosfatidylcholínu vrátane molekúl určených pre surfaktant. Enzýmy Kennedyho dráhy sú viazané na cytoplazmatickú stranu membrány ER, kde prebieha premena cholínu na fosfatidylcholín. Novovytvorený fosfatidylcholín je najprv súčasťou membrány ER a následne je selektívne presmerovaný do dráhy vedúcej k lamelárnym telieskam. V membránach ER zároveň prebieha remodelácia mastných kyselín (Landsov cyklus), ktorá vedie k obohateniu o DPPC prostredníctvom reacylácie lyzofosfatidylcholínu palmitátom. Tým sa vytvára špecifický molekulový profil surfaktantu.

Po syntéze a čiastočnej úprave sú fosfolipidy transportované do Golgiho aparátu, buď vezikulárne, alebo pomocou lipid-transportných proteínov. Golgiho aparát zabezpečuje ich triedenie a ďalšie smerovanie do prekurzorových štruktúr - lamelárnych teliesok.

Lamelárne telieska sú špecializované organely podobné lyzozómom (obr. 10). Vznikajú postupným usporiadaním fosfolipidov a surfaktantových proteínov do koncentrických multilamelárnych štruktúr. Lamelárne telieska plnia tri základné funkcie:

- umožňujú intracelulárne skladovanie veľkého množstva lipidov
- umožňujú regulovanú exocytózu v závislosti od potrieb alveolárneho prostredia
- sú vhodnými štruktúrami pre rýchlu reorganizáciu surfaktantu po exocytóze

Kľúčovým prvkom tohto procesu je transportér ABCA3 (ATP-binding cassette transporter A3), lokalizovaný v membráne lamelárnych teliesok. Pri deficite ABCA3 sa fosfolipidy nedokážu nahromadiť v lamelárnych telieskach, čo vedie k poruche tvorby surfaktantu. Mutácie v géne ABCA3 vedú k závažným poruchám homeostázy surfaktantu.



Obrázok 10 *Lamelárne telieska na apikálnom povrchu alveolárnych buniek II typu zobrazené pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie. Šípka ukazuje na tesné spojenie (tight junction) medzi pneumocytmi (zdroj Bingle L et al., 1990).*

2.3.2 Syntéza a proteolytické spracovanie SP-B a SP-C

Hydrofóbne surfaktantové proteíny SP-B a SP-C sú syntetizované ako väčšie prekurzorové polypeptidy, ktoré podliehajú komplexnému posttranslačnému spracovaniu v sekrečnej dráhe pneumocytu II. typu. Tento proces je striktne organizovaný a prebieha v niekoľkých intracelulárnych kompartmentoch, v endoplazmatickom retikule, Golgiho aparáte, multivezikulárnych telieskach a napokon v lamelárnych telieskach.

Správne proteolytické spracovanie je nevyhnutné pre vznik funkčných, hydrofóbnych proteínov schopných interagovať s lipidmi surfaktantu. Porucha ktoréhokoľvek kroku tejto dráhy vedie k závažnej dysfunkcii surfaktantu.

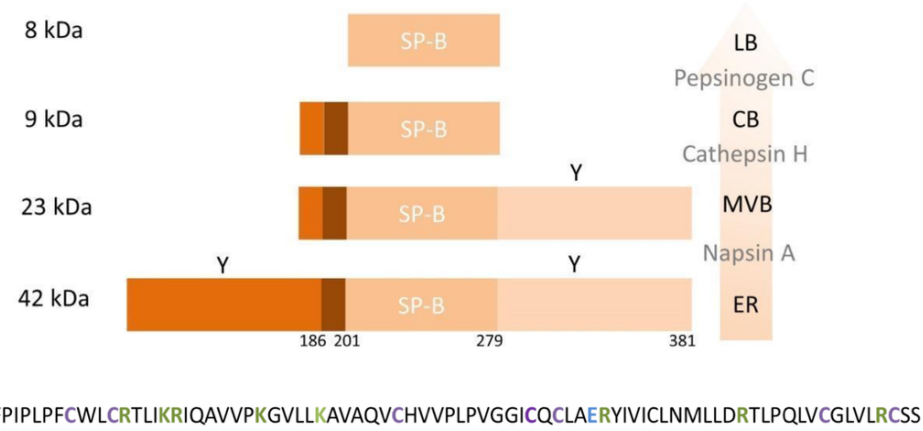
Syntéza a spracovanie SP-B

Surfaktantový proteín B (SP-B) je syntetizovaný ako veľký prekurzorový proteín (proSP-B) s približne 381 aminokyselinami. Translácia prebieha na ribozómoch asociovaných s granulárnym endoplazmatickým retikulom (ER), pričom N-terminálny signálny peptid zabezpečuje vstup novovznikajúceho polypeptidu do lúmen ER.

V endoplazmatickom retikule dochádza k:

- odstráneniu signálneho peptidu
- iniciácii správneho skladania proteínu
- tvorbe disulfidových mostíkov, ktoré sú zásadné pre stabilitu budúcej aktívnej formy

ProSP-B následne putuje do Golgiho aparátu, kde podlieha ďalším posttranslačným úpravám vrátane glykozylácie. Definitívne proteolytické spracovanie prebieha v neskorých endozomálnych a lamelárnych kompartmentoch za účasti špecifických proteáz (napr. napsín, katepsín, pepsinogén). Výsledkom je malý, silne hydrofóbny proteín SP-B, ktorý má veľkosť približne 79 aminokyselín a je stabilizovaný viacerými disulfidovými väzbami. Táto kompaktná štruktúra mu umožňuje efektívne sa vkladať do lipidových membrán a plniť svoju úlohu pri reorganizácii fosfolipidov (obr. 11).

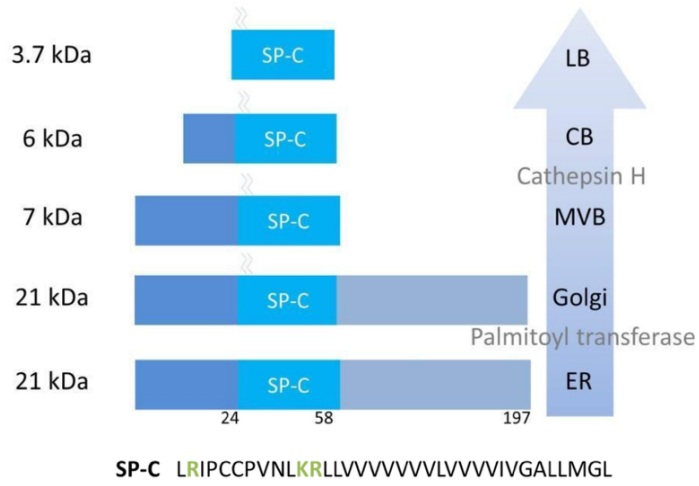


Obrázok 11 *Spracovanie a finálna sekvencia aminokyselín SP-B (dole). Proproteín je postupne štiepený rôznymi proteázami počas celej sekrečnej dráhy, až kým sa v lamelárnych telieskach nenachádza vo svojej zrelej forme (ER, endoplazmatické retikulum; MVB, multivezikulárne telieska; CB, kompozitné telieska; LB, lamelárne telieska) (Collada, 2026).*

Syntéza a spracovanie SP-C

Surfaktantový proteín C (SP-C) vzniká z prekurzora proSP-C, ktorý je kratší než proSP-B, avšak jeho biosyntéza je rovnako komplexná. Translácia taktiež prebieha v granulárnom ER, kde dochádza k odstráneniu signálnej sekvencie a iniciácii skladania proteínu. ProSP-C obsahuje hydrofóbnu transmembránovú doménu, ktorá je prekurzorom aktívnej α-helikálnej štruktúry SP-C. V ER a Golgiho aparáte podlieha postupným proteolytickým štiepeniam, pričom jeho N- a C-terminálne časti sú odstránené. Konečný produkt predstavuje extrémne hydrofóbny peptid s približne 35 aminokyselinami.

Na rozdiel od SP-B neobsahuje SP-C disulfidové mostíky. Jeho stabilita je daná prevažne hydrofóbnymi interakciami a pevnou integráciou do lipidovej dvojvrstvy. Počas maturácie je transportovaný do lamelárnych teliesok, kde sa spolu s lipidmi organizuje do komplexu pripraveného na sekréciu. Mutácie v géne pre SP-C môžu viesť k poruchám skladania proteínu, jeho agregácii a následnej bunkovej toxicite, čo je spojené s niektorými formami intersticiálnych pľúcnych ochorení (obr. 12).



Obrázok 12 *Spracovanie a finálna sekvencia SP-C aminokyselín (dole). Proproteín SP-C je dvojito acylovaný palmitoyltransferázou a prenesený z Golgiho aparátu do MVB. Tam pokračuje jeho spracovanie až do LB, kde dosiahne zrelú formu. Nie všetky enzýmy zúčastňujúce sa procesu dozrievania sú známe (ER, endoplazmatické retikulum; MVB, multivezikulárne telieska; CB, kompozitné telieska; LB, lamelárne telieska) (Collada, 2026).*

2.3.3 Intracelulárne usporiadanie surfaktantových lipidov a proteínov

Spracovanie SP-B a SP-C je úzko prepojené so syntézou lipidov. V lamelárnych telieskach sa aktívne formy proteínov dostávajú do kontaktu s fosfolipidmi, najmä s DPPC a fosfatidylglycerolom. Ich koordinované spájanie a hromadenie zabezpečuje, že po exocytóze je surfaktant pripravený na okamžitú reorganizáciu do funkčného filmu.

Ak by sa surfaktantové hydrofóbne proteíny nachádzali voľne v cytoplazme, boli by potenciálne cytotoxické. Ich postupné spracovanie a transport cez špecializované kompartmenty predstavuje ochranný mechanizmus bunky, ktorý zabraňuje nežiaducej interakcii s intracelulárnymi membránami.

Proteolytické spracovanie nie je iba „zmenšením“ prekurzorového proteínu, ale je podmienkou:

- získania správnej terciárnej štruktúry
- odhalenia hydrofóbnych segmentov schopných interakcie s lipidmi
- transportu proteínu do lamelárnych teliesok

Len vďaka tomuto presne koordinovanému procesu môžu vzniknúť funkčné molekuly SP-B a SP-C, a dobre fungujúci surfaktantový systém.

2.3.4 Sekrécia surfaktantu a exocytóza lamelárnych teliesok

Po syntéze a akumulácii lipidov a proteínov v lamelárnych telieskach nasleduje fáza ich regulovaného uvoľnenia do alveolárneho priestoru. Sekrécia surfaktantu je jemne regulovaný proces, ktorý závisí od koordinácie cytoskeletu, membránovej fúzie a intracelulárnych signálnych mechanizmov. Ide o klasický príklad regulovanej exocytózy sekrečných organel.

Mechanizmus exocytózy

Lamelárne telieska sa presúvajú v cytoplazme smerom k apikálnej membráne pneumocytu II. typu. Na ich intracelulárnom transporte a príprave na exocytózu sa podieľa mikrotubulárny systém aj aktínový cytoskelet. Po dosiahnutí apikálnej plazmatickej membrány dochádza k dokovaniu lamelárneho telieska a následnej fúzii jeho membrány s plazmatickou membránou bunky.

Fúzia je sprostredkovaná exocytotickým aparátom vrátane SNARE (Soluble N-ethylmaleimide–Sensitive Factor Attachment Protein Receptor) proteínov, ktoré zabezpečujú tesné priblíženie a spojenie membrány lamelárneho telieska s plazmatickou membránou. Po vytvorení fúzneho póru sa obsah lamelárneho telieska uvoľňuje do alveolárneho priestoru.

Exocytóza lamelárnych teliesok môže prebiehať rôznymi formami fúzie membrán:

- úplná fúzia, pri ktorej sa membrána lamelárneho telieska začlení do plazmatickej membrány
- prechodná fúzia, pri ktorej sa medzi membránou lamelárneho telieska a plazmatickou membránou vytvorí dočasný fúzny pór; po uvoľnení obsahu sa pór uzavrie a membrána lamelárneho telieska sa môže znovu oddeliť. Tento mechanizmus sa označuje ako „kiss-and-run“ exocytóza.

Reorganizácia surfaktantu po sekrécii

Bezprostredne po exocytóze sa surfaktantový materiál uvoľnený z lamelárnych teliesok reorganizuje v alveolárnom priestore do extracelulárnych lipidovo-proteínových štruktúr. Súčasťou tejto reorganizácie je vznik multilamelárnych agregátov a tubulárneho myelínu a vytvorenie povrchového filmu na rozhraní vzduch – tekutina.

Tieto štruktúry predstavujú prechod medzi intracelulárnou zásobnou formou surfaktantu a jeho funkčnou organizáciou na alveolárnom povrchu. Podrobná organizácia surfaktantu v alveolárnom priestore a mechanizmy tvorby a obnovy povrchového filmu sú uvedené v kapitole 2.5.1.

Funkčný význam sekrécie surfaktantu

Regulovaná sekrécia surfaktantu z lamelárnych teliesok:

- udržiava adekvátne množstvo surfaktantu na alveolárnom povrchu
- zabezpečuje priebežnú obnovu surfaktantového filmu
- umožňuje rýchle zvýšenie sekrécie pri zvýšenej potrebe, napríklad pri hlbokom nádychu alebo zvýšenom mechanickom napätí alveol
- kompenzuje straty surfaktantu spôsobené jeho degradáciou, internalizáciou alebo poškodením
- prispieva k zachovaniu nízkeho povrchového napätia a stability alveol počas dychového cyklu

Porucha exocytózy lamelárnych teliesok vedie k zníženiu dostupného množstva surfaktantu na alveolárnom povrchu, zvýšeniu povrchového napätia, zníženiu poddajnosti pľúc a zvýšenej tendencii alveol ku kolapsu.

2.3.5 Recyklácia a degradácia surfaktantu

Surfaktant uvoľnený do alveolárneho priestoru je súčasťou dynamického a pravidelne sa opakujúceho procesu. Počas dychových cyklov dochádza k redistribúcii lipidov medzi monovrstvou na povrchu a multilamelárnymi štruktúrami v hypofáze, pričom časť materiálu je postupne odstránená a musí byť nahradená novo syntetizovaným surfaktantom.

Súčasťou metabolického obratu surfaktantu sú dva hlavné procesy:

1. spätné vychytávanie (reuptake) pneumocytmi II. typu
2. degradácia surfaktantových zložiek, na ktorej sa podieľajú pneumocyty II. typu aj alveolárne makrofágy

Spätné vychytávanie pneumocytmi II. Typu

Pneumocyty II. typu sú nielen producentami surfaktantu, ale prebieha v nich aj podstatná časť recyklácie. Počas dýchania sa časť surfaktantových agregátov postupne transformuje na menšie, menej organizované formy, ktoré sú vhodné na endocytózu.

Vychytávanie surfaktantu z alveolárneho priestoru prebieha viacerými mechanizmami, ktorých aktivita závisí od funkčného stavu pneumocytu II. typu:

- klatrín-dependentná endocytóza – receptorovo sprostredkovaný, selektívny proces zahŕňajúci tvorbu klatrínových vačkov; predstavuje hlavný mechanizmus vychytávania zložiek surfaktantu
- klatrín-nezávislá endocytóza – ide o súbor dráh, zabezpečujúcich alternatívne mechanizmy (napr. caveolín-asociované alebo lipid raft–mediované procesy)
- makropinocytóza – neselektívny, aktín-dependentný príjem extracelulárnej tekutiny a jej obsahu, ktorý sa uplatňuje najmä pri zvýšenej bunkovej aktivite alebo zvýšenej potrebe recyklácie surfaktantu

Po transporte sprostredkovanom endocytózou sa surfaktantové lipidy a proteíny dostávajú do endozomálneho systému, kde sú triedené. Časť lipidov sa znovu využíva na syntézu surfaktantu a je opätovne inkorporovaná do lamelárnych teliesok. Tento recyklačný mechanizmus je energeticky výhodný a umožňuje efektívne udržiavanie zásoby surfaktantu bez nutnosti úplnej *de novo* syntézy. Odhaduje sa, že významná časť alveolárneho surfaktantu (až polovica denného obratu) prechádza recykláciou.

Degradácia v pneumocytoch II. typu

Lipidové a proteínové zložky, ktoré nie sú recyklované, podliehajú degradácii v lyzozómoch. Fosfolipázy, proteázy a ďalšie hydrolytické enzýmy rozkladajú surfaktant na základné stavebné jednotky – mastné kyseliny, glycerolové deriváty a aminokyseliny. Tieto produkty môžu byť následne opätovne využité v metabolizme bunky.

Degradácia slúži aj ako kontrolný mechanizmus kvality. Oxidované, denaturované alebo plazmatickými proteínmi inaktivované molekuly surfaktantu sú selektívne odstránené, čím sa zachováva funkčná integrita systému.

Úloha alveolárnych makrofágov

Alveolárne makrofágy predstavujú významnú súčasť klírensu a degradácie pľúcneho surfaktantu. Fagocytujú nadbytočné, poškodené alebo funkčne zmenené surfaktantové agregáty, ktoré neboli spätne vychytané pneumocytmi II. typu.

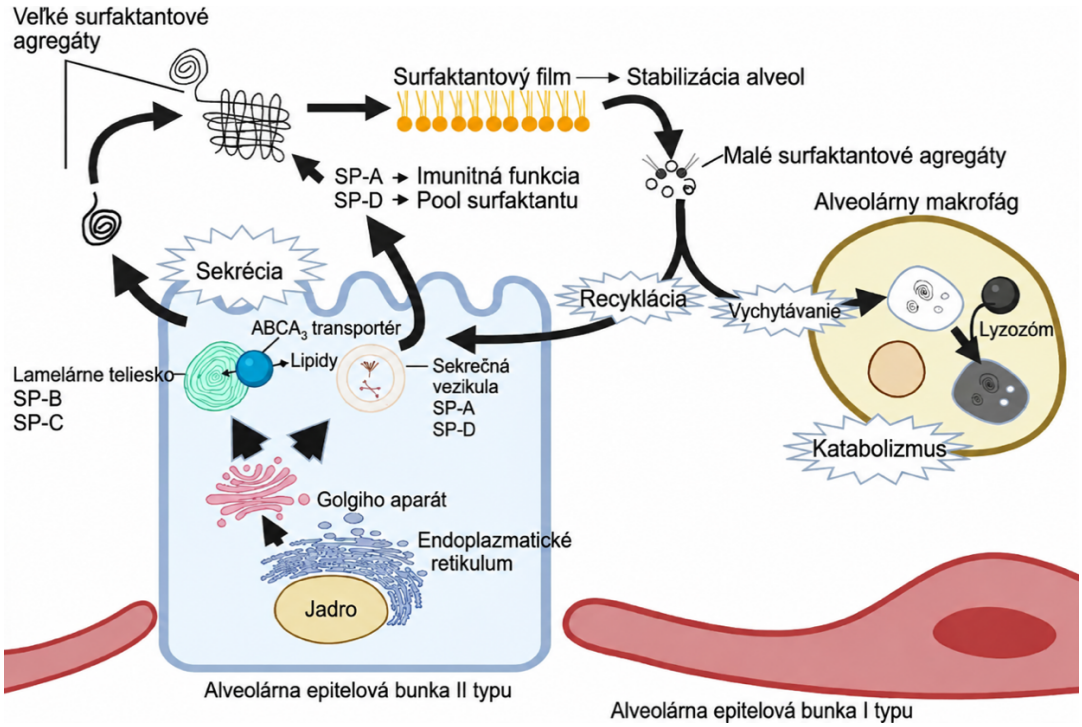
Po fagocytóze sa surfaktantové zložky rozkladajú v lyzozómoch, čím makrofágy prispievajú k udržiavaniu rovnováhy medzi tvorbou, recykláciou a degradáciou surfaktantu v alveolárnom priestore. Porucha tejto funkcie môže viesť k patologickej akumulácii surfaktantového

materiálu v alveolách. Typickým príkladom je pľúcna alveolárna proteinóza, pri ktorej dochádza k hromadeniu lipoproteínového materiálu v alveolách v dôsledku poruchy klírensu surfaktantu, často spojenej s dysfunkciou alveolárnych makrofágov.

2.3.6 Dynamická rovnováha syntézy, sekrécie a recyklácie surfaktantu

Celkový obrat pľúcneho surfaktantu predstavuje dynamický proces, v ktorom sa udržiava funkčná stabilita povrchu alveol (obr. 13). Ide o výsledok rovnováhy medzi tromi základnými procesmi:

- sekréciou novo syntetizovaného surfaktantu z lamelárnych teliesok pneumocytov II. typu do alveolárneho priestoru
- recykláciou existujúcich komponentov, ktoré po splnení svojej funkcie opätovne vstupujú do bunky a sú znovu zabudované do lamelárnych teliesok
- degradáciou a elimináciou poškodených alebo oxidovaných molekúl, ktorá prebieha intracelulárne v pneumocytoch II. typu alebo extracelulárne prostredníctvom alveolárnych makrofágov



Obrázok 13 *Metabolizmus pľúcneho surfaktantu. Po syntéze v endoplazmatickom retikule a úprave v Golgiho aparáte dochádza pomocou transportéra $ABCA_3$ k baleniu lipidov a proteínov SP-B a SP-C do lamelárnych teliesok. Po sekrécii do alveolárneho priestoru vytvára surfaktant veľké agregáty a následne funkčný surfaktantový film. Malé surfaktantové agregáty sú buď spätne recyklované pneumocytmi II. typu, alebo vychytávané a katabolizované alveolárnymi makrofágmi (upravené podľa Jobe, 2025).*

Za fyziologických podmienok je väčšina surfaktantových fosfolipidov recyklovaná, pričom len menšia časť podlieha definitívnej degradácii. Tento vysoký podiel recyklácie je metabolicky výhodný, keďže syntéza dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC) je energeticky náročný proces. Polčas obratu surfaktantových fosfolipidov sa u dospelých pohybuje v rozmedzí desiatok hodín až niekoľkých dní; u novorodencov môže byť kratší v dôsledku vyššej metabolickej aktivity. V patologických stavoch (ARDS, infekcia, hyperoxia, ventilátorom indukované poškodenie) sa kinetika zásadne mení, pretože sa zvyšuje degradácia, oxidácia lipidov a proteínov a súčasne môže byť narušená syntéza aj recyklácia.

Surfaktantové proteíny majú odlišnú reguláciu génovej expresie. SP-B a SP-C sú úzko asociované s lipidovou frakciou a ich výmena za nové často koreluje s metabolizmom fosfolipidov. SP-A a SP-D majú komplexnejšiu dynamiku, keďže sa podieľajú na imunitnej obrane a ich hladiny sú výrazne modulované zápalom. Ich eliminácia zahŕňa aj väzbu na patogény a následnú fagocytózu makrofágmi.

Z fyziologického hľadiska je tento dynamický cyklus nevyhnutný pre:

- udržiavanie stabilného množstva surfaktantu
- zachovanie optimálneho zloženia
- rýchlu adaptáciu na meniace sa parametre ventilácie

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.3

Agassandian M, Mallampalli RK. Surfactant phospholipid metabolism. Biochim Biophys Acta. 2013;1831(3):612–625.

Beers MF, Mulugeta S. Surfactant protein C biosynthesis and its emerging role in conformational lung disease. Annu Rev Physiol. 2005;67:663–696.

Bingle L et al. Type II pneumocytes in mixed cell culture of human lung: a light and electron microscopic study. Environ Health Perspect. 1990;85:71-80.

Bullard JE et al. ABCA3 deficiency: neonatal respiratory failure and interstitial lung disease. Semin Perinatol. 2006;30(6):327–334.

Collada M A. Structure and Organization of The Lipid/Protein Complexes of Pulmonary Surfactant. Madrid. Dizertačná práca (PhD.). Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas. 2026.

Gleason CA, Juul SE, eds. Avery's Diseases of the Newborn. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018.

Goss V et al. Regulation of lung surfactant phospholipid synthesis and metabolism. Biochim Biophys Acta. 2013;1831(3):448–458.

Ikegami M. Surfactant catabolism. Respirology. 2006;11(Suppl):S24–S27.

Jobe AH. Respiratory distress syndrome is the poster child for neonatology. Pediatr Res. 2025;98(1):59-64.

Mason RJ. Biology of alveolar type II cells. Respirology. 2006;11(Suppl):S12–S15.

Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. New York: Marcel Dekker; 2000.
Stahlman MT et al. Lamellar body formation in normal and surfactant protein B-deficient fetal mice. Lab Invest. 2000;80(3):395–403.
Weaver TE, Conkright JJ. Function of surfactant proteins B and C. Annu Rev Physiol. 2001;63:555–578.
Whitsett JA et al. Alveolar surfactant homeostasis and the pathogenesis of pulmonary disease. Annu Rev Med. 2010;61:105–119.
Wright JR, Dobbs LG. Regulation of pulmonary surfactant secretion and clearance. Annu Rev Physiol. 1991;53:395–414.
Yamano G et al. ABCA3 is a lamellar body membrane protein in human lung alveolar type II cells. FEBS Lett. 2001;508(2):221–225.

2.4 Regulačné mechanizmy surfaktantovej homeostázy

Komplexne regulovaná surfaktantová homeostáza predpokladá stabilnú rovnováhu medzi syntézou, sekréciou, recykláciou a degradáciou surfaktantu. Ide o dynamický proces, ktorý umožňuje pľúcam reagovať na vývojové zmeny, mechanické zaťaženie, hormonálne podnety aj patologické stimuly. Stabilita alveol závisí nielen od molekulárneho zloženia surfaktantu, ale aj od presnosti regulačných mechanizmov, ktoré riadia jeho obrat.

Homeostáza surfaktantu je koordinovaná a komplexná. Regulačné mechanizmy možno rozdeliť do štyroch hlavných úrovní:

1. transkripčná regulácia expresie surfaktantových génov
2. hormonálna a vývojová regulácia
3. mechanická regulácia viazaná na ventiláciu
4. imunologická a zápalová modulácia

2.4.1 Transkripčná regulácia expresie surfaktantových génov

Základným predpokladom dlhodobej surfaktantovej homeostázy je presná kontrola expresie génov kódujúcich surfaktantové proteíny aj enzýmy lipidovej biosyntézy. Pneumocyt II. typu je vysoko špecializovaná bunka, ktorej fenotyp je definovaný špecifickým transkripčným programom. Kľúčovú úlohu v tomto procese zohráva transkripčný faktor NKX2-1, známy aj ako TTF-1 (tyreoidálny transkripčný faktor 1). Tento faktor je zásadný pre vývoj pľúc a diferenciáciu alveolárneho epitelu. NKX2-1 priamo aktivuje transkripciu génov *SFTPB* (SP-B) a *SFTPC* (SP-C) a podieľa sa aj na regulácii ďalších génov zapojených do metabolizmu lipidov. Porucha jeho expresie vedie k závažným vývojovým abnormalitám pľúc a k deficitu surfaktantu.

Spolu s NKX2-1 pôsobia ďalšie transkripčné faktory, najmä FOXA2 a GATA6, ktoré stabilizujú alveolárny fenotyp pneumocytu II. typu. Zabezpečujú koordinovanú expresiu proteínov aj lipidov surfaktantu, čím bránia nesúladu medzi syntézou jednotlivých komponentov.

Transkripčná regulácia má dlhodobý charakter. Umožňuje adaptáciu surfaktantového systému počas vývoja pri chronickom mechanickom zaťažení alebo pri pretrvávajúcom zápale.

2.4.2 Hormonálna regulácia

Produkcia surfaktantu výrazne narastá v záverečných štádiách fetálneho vývoja. Tento proces je riadený hormonálnymi signálmi, ktoré podporujú diferenciáciu pneumocytov II. typu a aktivujú syntézu surfaktantu. Výsledkom pôsobenia týchto hormonálnych signálov je regulácia syntézy, intracelulárneho uskladnenia a sekrécie surfaktantu počas fetálneho vývoja, čím sa zabezpečí správna funkcia pľúc po narodení.

Najvýznamnejšiu úlohu zohrávajú glukokortikoidy. Ich koncentrácia sa fyziologicky zvyšuje v perinatálnom období a vedie k:

- podpore diferenciácie pneumocytov II. typu
- stimulácii syntézy surfaktantových fosfolipidov
- indukcii expresie surfaktantových proteínov
- stimulácii sekrécie surfaktantu

Glukokortikoidy (GK) predstavujú kľúčové hormóny pre reguláciu dozrievania pľúc a syntézy pľúcneho surfaktantu počas fetálneho vývoja. Ich účinok je sprostredkovaný najmä aktiváciou glukokortikoidového receptora, ktorý sa po väzbe ligandu translokuje do jadra bunky a pôsobí ako transkripčný faktor regulujúci expresiu génov zapojených do diferenciácie pneumocytov II. typu a metabolizmu zložiek surfaktantu. GK stimulujú syntézu surfaktantových fosfolipidov, najmä fosfatidylcholínu a dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC), prostredníctvom zvýšenej aktivity enzýmov Kennedyho dráhy, ako sú cholin-fosfát cytidylyltransferáza a cholin-fosfotransferáza. Zvyšujú expresiu surfaktantových proteínov SP-B a SP-C a stimulujú expresiu transportných a regulačných proteínov zapojených do intracelulárnej distribúcie lipidov. Okrem toho podporujú diferenciáciu pneumocytov II. typu a tvorbu lamelárnych teliesok. Tento proces zahŕňa aj zvýšenú expresiu transportéra ABCA3, ktorý zabezpečuje aktívny transport fosfolipidov do lúmen lamelárnych teliesok. GK podporujú mechanizmy sekrécie surfaktantu. Zvyšujú citlivosť pneumocytov II. typu na sekrečné stimuly,vrátane β-adrenergných agonistov a mechanického napínania alveolárneho epitelu, čím podporujú exocytózu lamelárnych teliesok a uvoľňovanie surfaktantu do alveolárneho priestoru. V perinatálnom období GK stimulujú dozrievanie pľúc. Podporujú expresiu iónových transportných systémov, najmä epitelových sodíkových kanálov (ENaC) a Na^+/K^+-ATPázy, čím stimulujú resorpciu tekutiny z alveolárneho priestoru. Tento mechanizmus je kľúčový pre plynulú zmenu dýchania po narodení.

Mechanizmy pôsobenia GK sú fyziologickým podkladom pre klinické podávanie kortikosteroidov u tehotných žien s rizikom predčasného pôrodu. Podanie betametazónu alebo

dexametazónu urýchľuje maturáciu pneumocytov II. typu, zvyšuje produkciu surfaktantu a významne znižuje výskyt syndrómu respiračnej tiesne novorodenca (RDS).

Medzi ďalšie hormóny s regulačnou funkciou patria najmä tyreoidálne hormóny, inzulín a katecholamíny, ktoré modulujú dozrievanie pneumocytov II. typu a syntézu i sekréciu surfaktantu rôznymi mechanizmami.

Tyreoidálne hormóny (T3 a T4) pôsobia synergicky s glukokortikoidmi a prispievajú k maturácii alveolárneho epitelu. Experimentálne aj klinické štúdie ukazujú, že stimulujú expresiu enzýmov zapojených do syntézy fosfatidylcholínu a podporujú diferenciáciu pneumocytov II. typu. Tým sa zvyšuje produkcia kľúčových fosfolipidov surfaktantu, najmä dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC), a zároveň sa podporuje tvorba lamelárnych teliesok.

Inzulín má naopak skôr inhibičný účinok na dozrievanie surfaktantu. Zvýšené koncentrácie inzulínu, napríklad pri fetálnej hyperinzulinémii u detí matiek s diabetom, môžu potláčať expresiu génov pre surfaktantové proteíny (najmä SP-A a SP-B) a znižovať aktivitu enzýmov syntézy fosfolipidov. Výsledkom je oneskorené dozrievanie pneumocytov II. typu a zvýšené riziko neonatálneho RDS.

Katecholamíny, najmä adrenalín a noradrenalín, zohrávajú významnú úlohu v období bezprostredne pred pôrodom a počas pôrodu. Aktivácia β-adrenergných receptorov pneumocytov II. typu stimuluje exocytózu lamelárnych teliesok a tým sekréciu surfaktantu. Súčasne podporujú aj resorpciu alveolárnej tekutiny aktiváciou sodíkových transportných mechanizmov v alveolárnom epiteli, čím prispievajú k funkčnej adaptácii pľúc dieťaťa na dýchanie po narodení.

2.4.3 Mechanická regulácia viazaná na ventiláciu

Pneumocyty II. typu sú schopné reagovať na mechanické podnety vznikajúce počas ventilácie pľúc. Alveoly sa pri každom dychovom cykle rytmicky rozťahujú a opäť zmenšujú, čo vedie k zmenám napätia alveolárnej steny. Tieto mechanické podnety predstavujú významný regulačný signál pre metabolizmus a sekréciu surfaktantu.

Natiahnutie alveolárneho epitelu aktivuje mechanosenzitívne signálne mechanizmy v pneumocytoch II. typu. Jedným z prvých krokov tejto odpovede je zvýšenie intracelulárnej

koncentrácie iónov vápnika (Ca^{2+}), a to v dôsledku otvorenia mechanosenzitívnych iónových kanálov alebo uvoľnenia Ca^{2+} z intracelulárnych zásob. Zvýšenie koncentrácie Ca^{2+} následne aktivuje signálne dráhy vedúce k reorganizácii cytoskeletu a k mobilizácii lamelárnych teliesok smerom k apikálnej membráne pneumocytu II. typu. Výsledkom je ich zvýšená exocytóza a okamžité uvoľnenie surfaktantu do alveolárneho priestoru.

Mechanická regulácia tak umožňuje rýchlu adaptáciu surfaktantu na aktuálnu ventiláciu. Po hlbokom nádychu alebo pri hyperpnoe dochádza k väčšej distenzii alveol, čo stimuluje sekréciu surfaktantu a vedie k zväčšeniu zásoby surfaktantu. Tento mechanizmus pomáha stabilizovať alveoly pri zväčšenom objeme pľúc a zároveň znižuje povrchové napätie v situáciách, keď je alveolárna stena vystavená vyššiemu mechanickému stresu. Extrémne mechanické zaťaženie pľúc však môže mať opačný efekt. Nadmerná distenzia alveol, aká sa vyskytuje napríklad pri použití vysokých dychových objemov pri umelej pľúcnej ventilácii, môže viesť k poškodeniu alveolárneho epitelu a k narušeniu surfaktantu. Naopak, nedostatočná ventilácia vedie k zníženiu mechanickej stimulácie pneumocytov II. typu. Pri hypoventilácii sa znižuje frekvencia aj amplitúda distenzie alveol, čo vedie k poklesu exocytózy lamelárnych teliesok a k postupnému zníženiu zásoby surfaktantu. Tento jav bol pozorovaný v experimente napríklad pri dlhodobej mechanickej ventilácii s nízkymi objemami alebo pri atelektázach.

Mechanická regulácia surfaktantu preto predstavuje jemne vyvážený systém, ktorý umožňuje rýchlu adaptáciu alveolárneho prostredia na fyziologické zmeny ventilácie, no zároveň je citlivý na extrémne podnety.

2.4.4 Imunologická a zápalová regulácia

Alveolárne prostredie je vystavené neustálemu kontaktu s mikroorganizmami, inhalovanými časticami a rôznymi potenciálne škodlivými látkami prítomnými v inhalovanom vzduchu. Aktivácia lokálnej zápalovej odpovede je v tomto prostredí častým javom a má významný vplyv na surfaktantovú homeostázu.

Prozápalové cytokíny, ako napríklad tumor nekrotizujúci faktor α (TNF-α), interleukín-1β (IL-1β) alebo interleukín-6 (IL-6), môžu znižovať expresiu génov surfaktantových proteínov a súčasne meniť metabolizmus surfaktantových fosfolipidov v pneumocytoch II. typu. Výsledkom je znížená syntéza niektorých kľúčových zložiek surfaktantu a zmena jeho molekulárneho zloženia. Zápalové procesy zvyšujú permeabilitu alveolokapilárnej membrány, čo umožňuje prestup plazmatických proteínov do alveolárneho priestoru. Tie môžu inaktivovať surfaktant, zvyšovať povrchové napätie a zhoršovať stabilitu alveol.

Významným faktorom dysregulácie surfaktantu pri zápale je aj oxidačný stres. Reaktívne formy kyslíka a dusíka produkované aktivovanými imunitnými bunkami môžu oxidovať surfaktantové fosfolipidy, čo vedie k peroxidácii acylových reťazcov a zmene ich fyzikálno-chemických vlastností. Takto modifikované lipidy strácajú schopnosť vytvárať kompaktné kondenzované domény potrebné na dosiahnutie nízkeho povrchového napätia. Oxidačné poškodenie môže zároveň viesť k denaturácii alebo degradácii SP-B a SP-C, ktoré sú nevyhnutné pre rýchlu reorganizáciu lipidov na alveolárnom povrchu.

Na druhej strane surfaktant sám zohráva významnú úlohu v regulácii alveolárnej imunity. SP-A a SP-D sú ako kolektíny súčasťou vrodenej imunity pľúc. Tieto proteíny rozpoznávajú špecifické molekulárne štruktúry na povrchu mikroorganizmov, podporujú ich opsonizáciu a uľahčujú fagocytózu alveolárnymi makrofágmi. Súčasne modulujú aktivitu imunitných buniek a pomáhajú regulovať intenzitu zápalovej odpovede. Surfaktant tak vytvára dôležitú funkčnú väzbu medzi biofyzikálnou stabilitou alveol a imunitnou obranou pľúc, pričom porucha jednej z týchto zložiek môže negatívne ovplyvniť druhú.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.4

Bohinski RJ et al. The lung-specific surfactant protein B gene promoter is a target for thyroid transcription factor 1 and hepatocyte nuclear factor 3, indicating common factors for organ-specific gene expression along the foregut axis. Mol Cell Biol. 1994;14(9):5671–5681.

Crouch E, Wright JR. Surfactant proteins A and D and pulmonary host defense. Annu Rev Physiol. 2001;63:521–554.

Dietl P et al. Spatio-temporal aspects, pathways and actions of Ca(2+) in surfactant secreting pulmonary alveolar type II pneumocytes. Cell Calcium. 2012;52(3-4):296–302.

Gleason CA, Juul SE, eds. Avery's Diseases of the Newborn. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018.

Grier DG, Halliday HL. Effects of glucocorticoids on fetal and neonatal lung development. Treat Respir Med. 2004;3(5):295–306.

Günther A et al. Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. Respir Res. 2001;2(6):353–364.

Haller T et al. Threshold calcium levels for lamellar body exocytosis in type II pneumocytes. Am J Physiol. 1999;277(5):L893–L900.

Hawgood S, Poulain FR. The pulmonary collectins and surfactant metabolism. Annu Rev Physiol. 2001;63:495–519.

Huang HW et al. Glucocorticoid regulation of human pulmonary surfactant protein-B mRNA stability involves the 3'-untranslated region. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2008;294(4):L652–L663.

Javorka K. Ontogenetické aspekty respiračného systému. In: Čalkovská A, et al. Pľúcny surfaktant: z laboratória k pacientovi. Martin: Osveta; 2013. p. 16–55.

Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. New York: Marcel Dekker; 2000.

Rodríguez-Capote K et al. Reactive oxygen species inactivation of surfactant involves structural and functional alterations to surfactant proteins SP-B and SP-C. Biophys J. 2006;90(8):2808–2821.

Tan RC et al. Developmental and glucocorticoid regulation of surfactant protein mRNAs in preterm lambs. Am J Physiol. 1999;277(6):L1142–L1148.
Wan H et al. Foxa2 is required for transition to air breathing at birth. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(40):14449–14454.
Whitsett JA et al. Alveolar surfactant homeostasis and the pathogenesis of pulmonary disease. Annu Rev Med. 2010;61:105–119.
Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. Nat Rev Immunol. 2005;5(1):58–68.
Wright JR, Dobbs LG. Regulation of pulmonary surfactant secretion and clearance. Annu Rev Physiol. 1991;53:395–414.
Zuo YY et al. Atomic force microscopy studies of functional and dysfunctional pulmonary surfactant films. II. Albumin-inhibited pulmonary surfactant films and the effect of SP-A. Biophys J. 2008;94(9):3549–3564.

2.5 Štruktúrna organizácia a funkčná dynamika pľúcneho surfaktantu

Surfaktant svoje funkcie uplatňuje až po vylúčení z bunky a dosiahnutí alveolárneho povrchu. Na rozhraní vzduch – tekutina sa jeho lipidy a proteíny organizujú do dynamických štruktúr, ktoré určujú povrchové napätie a významne ovplyvňujú mechaniku pľúc.

2.5.1 Organizácia surfaktantu v alveolárnom priestore

Po uvoľnení z pneumocytov II. typu sa obsah lamelárnych teliesok dostáva do alveolárneho priestoru, kde sa reorganizuje do systému extracelulárnych lipidovo-proteínových štruktúr. Povrch alveol orientovaný do alveolárneho priestoru je pokrytý tenkou vrstvou tekutiny označovanou ako hypofáza. Hypofáza obsahuje rozpustené proteíny, ióny a ďalšie molekulárne zložky alveolárneho prostredia. Na rozhraní medzi hypofázou a alveolárnym vzduchom sa nachádza povrchový surfaktantový film. Surfaktantový systém tak zahŕňa povrchovú monovrstvu na rozhraní vzduch – tekutina a subpovrchové štruktúry v hypofáze, najmä multilamelárne agregáty a tubulárny myelín.

Povrchová monovrstva surfaktantu na rozhraní vzduch – tekutina

Monovrstva surfaktantových fosfolipidov predstavuje funkčnú časť surfaktantového systému, ktorá priamo reguluje povrchové napätie. Fosfolipidy majú amfipatické vlastnosti, preto sú ich polárne hydrofilné hlavy orientované smerom do vodnej hypofázy, zatiaľ čo nepolárne hydrofóbne acylové reťazce smerujú k alveolárnemu vzduchu. Toto usporiadanie vzniká spontánne v dôsledku snahy systému minimalizovať voľnú energiu na rozhraní vzduch – tekutina. Medzi acylovými reťazcami zároveň pôsobia van der Waalsove interakcie, ktoré podporujú ich laterálne usporiadanie.

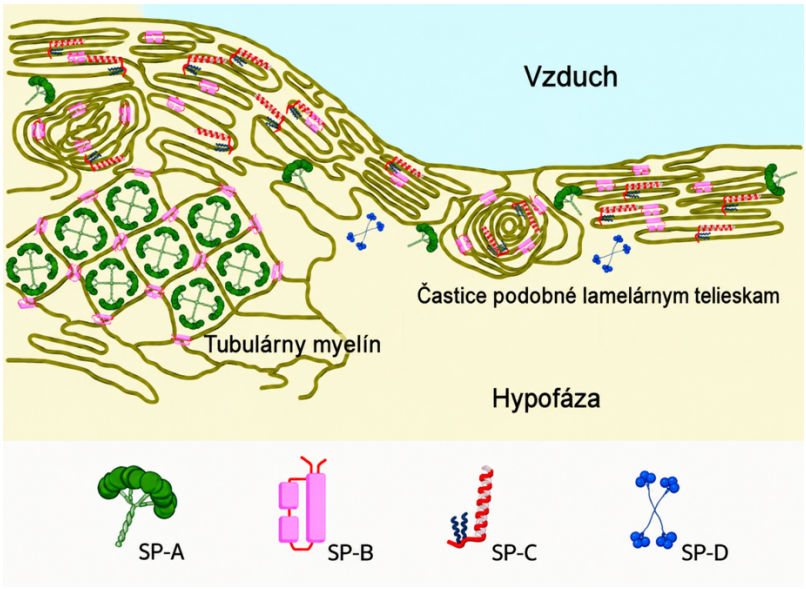
Takto organizovaná monovrstva znižuje kohézne sily medzi molekulami vody na povrchu alveolárnej tekutiny, a tým redukuje povrchové napätie. Jej dominantným lipidom je dipalmitoylfosfatidylcholín (DPPC). Súčasťou monovrstvy sú aj ďalšie fosfolipidy, najmä fosfatidylglycerol a nenasýtené molekulárne druhy fosfatidylcholínu, ktoré ovplyvňujú fluiditu a dynamickú reorganizáciu filmu.

Multilamelárny rezervoár surfaktantu v hypofáze

Pod povrchovou monovrstvou sa nachádza systém multilamelárnych lipidových agregátov, ktorý predstavuje rezervoár surfaktantového materiálu. Multilamelárne agregáty pozostávajú z viacerých koncentrických alebo paralelne usporiadaných fosfolipidových dvojvrstiev

vznikajúcich reorganizáciou materiálu uvoľneného z lamelárnych teliesok. Obsahujú vysoké koncentrácie surfaktantových fosfolipidov, najmä fosfatidylcholínu a fosfatidylglycerolu, a predstavujú dynamický zásobník lipidového materiálu dostupného na obnovu povrchovej monovrstvy (obr. 14).

Stabilita a funkčná dynamika multilamelárnych agregátov sú úzko spojené s prítomnosťou hydrofóbnych surfaktantových proteínov SP-B a SP-C. SP-B podporuje zakrivenie a fúziu membrán, reorganizáciu multilamelárnych štruktúr a prechod lipidov medzi jednotlivými membránovými vrstvami. SP-C stabilizuje lipidové membrány a podporuje adsorpciu fosfolipidov na rozhranie vzduch – tekutina. Oba proteíny tak prispievajú k efektívnej výmene lipidového materiálu medzi subpovrchovým rezervoárom a povrchovým filmom.



Obrázok 14 *Pľúcny surfaktant vytvára povrchový film na rozhraní vzduch – tekutina nad hypofázou pokrývajúcou alveolárny epitel. V hypofáze sa nachádzajú multilamelárne agregáty a tubulárny myelín, ktoré predstavujú rezervoár surfaktantového materiálu. Hydrofóbne surfaktantové proteíny SP-B a SP-C sa podieľajú na organizácii a dynamike lipidových štruktúr, SP-A je súčasťou tubulárneho myelínu a SP-D sa nachádza prevažne v rozpustnej forme v hypofáze (upravené podľa Fröhlich E,, 2022).*

Osobitnou formou extracelulárnej organizácie surfaktantu je tubulárny myelín. Vzniká reorganizáciou surfaktantového materiálu v alveolárnej hypofáze a vytvára pravidelnú trojrozmernú sieť membránových štruktúr. Elektrónová mikroskopia zobrazuje jeho charakteristickú mriežkovitú architektúru tvorenú ortogonálne usporiadanými lipidovými membránami. Vznik a stabilita tubulárneho myelínu sú úzko spojené s prítomnosťou SP-A, ktorý prostredníctvom interakcií s fosfolipidovými membránami prispieva k vytváraniu jeho

charakteristickej štruktúry. Tubulárny myelín predstavuje organizovanú formu surfaktantového rezervoára, z ktorého môže byť materiál mobilizovaný na tvorbu a obnovu povrchového filmu.

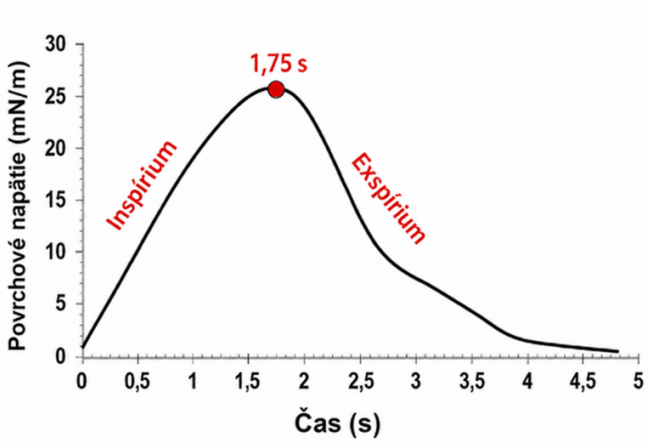
2.5.2 Dynamika surfaktantového filmu počas dychového cyklu

Povrchová monovrstva a subpovrchový rezervoár surfaktantu tvoria dynamicky prepojený systém, ktorý reaguje na cyklické zmeny plochy alveolárneho rozhrania. Počas nádychu sa plocha rozhrania vzduch – tekutina zväčšuje a surfaktantový film sa rozprestiera, zatiaľ čo počas výdychu sa alveolárny povrch zmenšuje a film sa komprimuje. Tieto zmeny sú sprevádzané redistribúciou surfaktantových lipidov medzi povrchovou monovrstvou a subpovrchovými štruktúrami a dynamickými zmenami povrchového napätia.

Kompresia surfaktantového filmu počas výdychu

Pri zmenšovaní alveolárneho povrchu počas výdychu dochádza ku kompresii surfaktantového filmu a k zvyšovaniu plošnej hustoty lipidových molekúl. Fosfolipidy sa usporadúvajú tesnejšie a povrchové napätie postupne klesá. Pri výraznejšej kompresii môže časť surfaktantového materiálu opúšťať rovinu povrchovej monovrstvy a vytvárať povrchovo asociované viacvrstvové štruktúry. Klasický model označovaný ako „squeeze-out“ predpokladá, že sa z rozhrania prednostne vylučujú fluidnejšie, najmä nenasýtené lipidové komponenty, čím sa povrchový film relatívne obohacuje o DPPC. Tesne usporiadaný film bohatý na nasýtené fosfolipidy potom môže pri nízkych alveolárnych objemoch dosahovať veľmi nízke hodnoty povrchového napätia a prispievať k stabilite alveol (obr. 15).

Rozsah, v akom selektívny „squeeze-out“ prebieha počas fyziologického dýchania *in vivo*, však nie je definitívne objasnený. Experimentálne pozorovania podporujú aj reverzibilné skladanie surfaktantového filmu a tvorbu povrchovo asociovaných viacvrstvových štruktúr, z ktorých sa materiál môže pri opätovnej expanzii vracať na rozhranie. Novšia koncepcia zároveň predpokladá, že film obohatený o nasýtené fosfolipidy môže vznikať už počas adsorpcie surfaktantu na rozhranie vzduch – tekutina prostredníctvom adsorpčne riadeného triedenia lipidov. Relatívny význam týchto mechanizmov v intaktných pľúcach zostáva predmetom výskumu.



Obrázok 15 *Dynamické správanie lipidového filmu počas dychového cyklu. Graf znázorňuje časový priebeh povrchového napätia počas jedného dychového cyklu. Počas inspíria dochádza k zväčšeniu alveolárnej plochy, čo vedie k postupnému zvýšeniu povrchového napätia. Počas exspíria sa plocha zmenšuje, lipidový film sa komprimuje a povrchové napätie prudko klesá na veľmi nízke hodnoty (upravené podľa Francis a Saha, 2022).*

Redistribúcia surfaktantu počas nádychu

Počas nádychu sa alveoly rozširujú a plocha rozhrania vzduch – tekutina sa zväčšuje. Surfaktantový film sa preto musí opätovne rozprestrieť tak, aby zostalo zväčšujúce sa alveolárne rozhranie kontinuálne pokryté surfaktantom. Tento proces, označovaný ako „respreading“, zahŕňa laterálnu redistribúciu lipidov v povrchovej monovrstve a mobilizáciu surfaktantového materiálu zo subpovrchového rezervoára.

Lipidy presunuté z povrchovej vrstvy počas predchádzajúcej kompresie môžu byť opätovne inkorporované do filmu. Multilamelárne agregáty a ďalšie subpovrchové štruktúry pritom predstavujú zásobník materiálu dostupného na rýchlu obnovu povrchovej vrstvy. SP-B a SP-C podporujú reorganizáciu lipidových membrán a adsorpciu lipidov na rozhranie vzduch – tekutina. Dynamická výmena materiálu medzi povrchovým filmom a subpovrchovým rezervoárom tak umožňuje zachovanie integrity a funkčnosti surfaktantového systému počas opakovaných dychových cyklov.

Funkčne účinný surfaktantový film musí spĺňať tri základné požiadavky:

- schopnosť dosiahnuť nízke povrchové napätie pri kompresii (zmenšení povrchu pri výdychu)
- schopnosť rýchlej redistribúcie a obnovy surfaktantovej monovrstvy pri zväčšovaní alveolárneho povrchu (pri nádychu)
- schopnosť zachovať štruktúrnu a funkčnú integritu počas opakovaných dychových cyklov

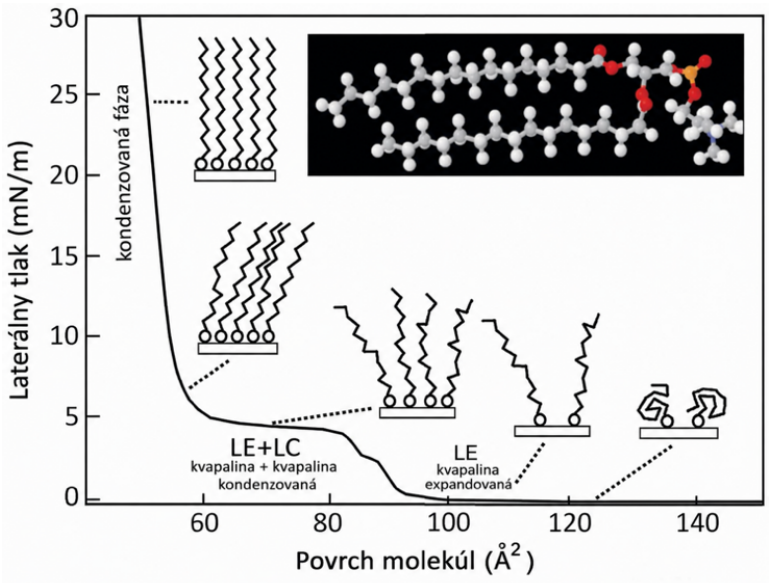
2.5.3 Molekulárne mechanizmy regulácie povrchového napätia

Schopnosť pľúcneho surfaktantu dynamicky regulovať povrchové napätie vyplýva z fyzikálno-chemických vlastností jeho lipidových a proteínových zložiek a z ich vzájomnej organizácie na rozhraní vzduch – tekutina. Rozhodujúce sú najmä zmeny plošnej hustoty lipidov, fázové prechody v surfaktantovej monovrstve, vznik laterálnych domén a výmena materiálu medzi povrchovou vrstvou a subpovrchovým rezervoárom. Tieto mechanizmy umožňujú, aby sa vlastnosti filmu priebežne prispôsobovali zmenám alveolárnej plochy počas dychového cyklu.

Fázové správanie lipidovej monovrstvy

Fosfolipidy v surfaktantovej monovrstve sa nenachádzajú v jednotnom fyzikálnom stave. Ich usporiadanie závisí najmä od plošnej hustoty molekúl, lipidového zloženia a teploty. Pri nižšej plošnej hustote je film voľnejšie usporiadaný a lipidové molekuly majú vyššiu laterálnu pohyblivosť. Pri kompresii sa molekuly približujú, ich pohyblivosť sa znižuje a časť filmu prechádza do usporiadanejšieho, kondenzovaného stavu.

Osobitné postavenie má DPPC, ktorého biofyzikálne vlastnosti súvisia s prítomnosťou dvoch plne nasýtených lineárnych palmitoylových reťazcov a relatívne vysokou teplotou fázového prechodu. Pri kompresii surfaktantového filmu sa molekuly DPPC preskupujú z voľnejšie usporiadanej expandovanej fázy (liquid-expanded, LE) do kondenzovanej fázy (liquid-condensed, LC). V kondenzovanom stave sú acylové reťazce usporiadané takmer paralelne a molekuly sú laterálne tesne zabalené, čím vytvárajú kompaktné a mechanicky stabilné oblasti monovrstvy. So zvyšujúcou sa kompresiou tak rastie laterálny tlak a povrchové napätie klesá na veľmi nízke hodnoty (obr. 16).



Obrázok 16 *Fázový diagram monovrstvy dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC). Graf znázorňuje závislosť laterálneho tlaku (mN/m) od plochy pripadajúcej na jednu molekulu (Å²) pri postupnej kompresii lipidovej monovrstvy na rozhraní vzduch – tekutina. Pri veľkej ploche na molekulu sa DPPC nachádza v tzv. liquid-expanded (LE) fáze, charakterizovanej voľnejším usporiadaním acylových reťazcov a nižším laterálnym tlakom. So zmenšovaním plochy prechodne koexistujú LE a liquid-condensed (LC) fázy, v ktorej sa postupne formujú domény tesne zabalených molekúl. Pri ďalšej kompresii prechádza monovrstva do LC fázy, kde sú saturované palmitoylové reťazce usporiadané paralelne a kompaktne. V tomto stave laterálny tlak prudko stúpa a povrchové napätie klesá na veľmi nízke hodnoty. Schematické nákresy nad grafom ilustrujú zmeny molekulárneho usporiadania počas kompresie. Vložený molekulový model zobrazuje štruktúru DPPC, tvorenú dvoma saturovanými reťazcami mastných kyselín (C16:0) a polárnou fosfatidylcholínovou hlavou (upravené podľa Roke et al., 2003).*

Z biofyzikálneho hľadiska dochádza v monovrstve surfaktu k fázovej separácii lipidov, teda k vytváraniu oblastí s odlišným usporiadaním a pohyblivosťou lipidových molekúl. Kondenzované domény (LC) bohaté na DPPC koexistujú s tekutými doménami (LE) obsahujúcimi nenasýtené fosfolipidy. Táto heterogenita je funkčne nevyhnutná. Tekuté domény majú voľnejšie usporiadanie lipidov, vyššiu laterálnu pohyblivosť molekúl a zabezpečujú pružnosť filmu, čím umožňujú redistribúciu molekúl počas inspíria a zabraňujú ruptúre alebo destabilizácii monovrstvy. Kondenzované oblasti zabezpečujú stabilitu pri exspíriu. Bez tejto rovnováhy by surfaktantový film nebol schopný zachovať si integritu pri cyklicky sa meniacej veľkosti plochy počas dýchania.

Natívny surfaktantový film je laterálne heterogénny vďaka koexistencii stabilných kondenzovaných a dynamickejších fluidných oblastí. Kondenzované oblasti prispievajú k mechanickej stabilite filmu a umožňujú dosahovať veľmi nízke povrchové napätie pri kompresii, zatiaľ čo fluidnejšie oblasti zabezpečujú jeho flexibilitu a dynamickú reorganizáciu. Táto heterogenita tak umožňuje surfaktantovému filmu prispôsobovať sa cyklickým zmenám

alveolárneho povrchu počas dýchania, rýchlo sa rozprestierať a obnovovať svoju štruktúru bez straty funkčnej stability.

Schopnosť DPPC vytvárať pri kompresii tesne usporiadané kondenzované domény tak predstavuje jeden zo základných molekulárnych mechanizmov, ktorými surfaktant znižuje povrchové napätie pri nízkych pľúcnych objemoch.

Hysteréza surfaktantového filmu

Pri cyklickom stláčaní a rozpínaní surfaktantového filmu nie je vzťah medzi plochou filmu a povrchovým napätím počas kompresie a následnej expanzie totožný. Tento jav sa označuje ako hysteréza surfaktantového filmu a odráža dynamickú a čiastočne reverzibilnú reorganizáciu jeho lipidových a proteínových zložiek.

Počas kompresie sa lipidové molekuly usporadúvajú tesnejšie a časť komponentov môže prechádzať z povrchovej monovrstvy do subpovrchových štruktúr. Pri následnej expanzii sa tento materiál nevracia do povrchového filmu okamžite ani úplne rovnakou cestou. Redistribúcia lipidov, ich opätovná adsorpcia a reorganizácia laterálnych domén preto spôsobujú, že priebeh zmien povrchového napätia počas expanzie sa líši od priebehu počas kompresie.

Hysteréza tak predstavuje prejav dynamickej adaptácie surfaktantového filmu na cyklické zmeny alveolárnej plochy a nie poruchu jeho funkcie.

2.5.4 Funkčný význam organizácie surfaktantu pre mechaniku pľúc

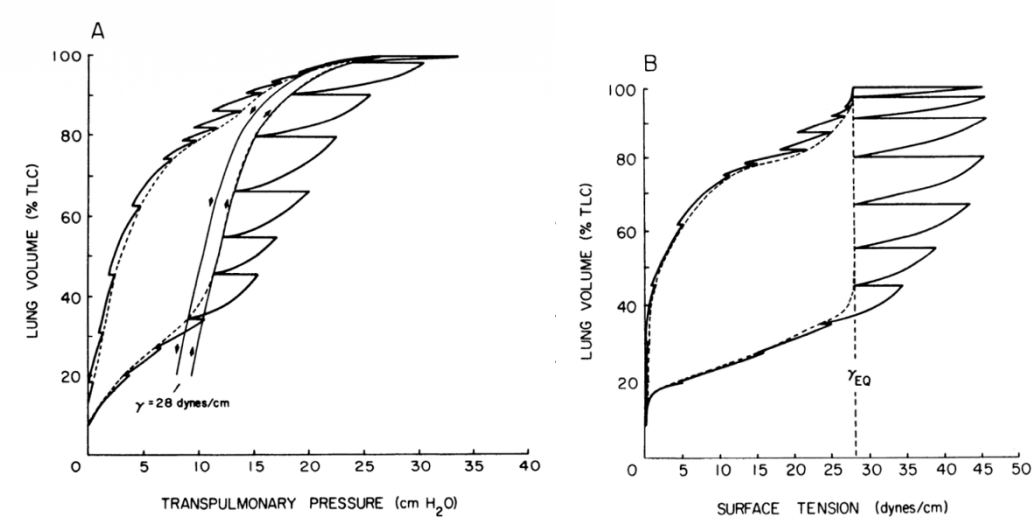
Vzťah medzi povrchovým napätím, alveolárnou stabilitou, poddajnosťou pľúc, tlakovo-objemovou krivkou a prácou dýchania bol podrobnejšie vysvetlený v kapitole 1.5. Štruktúrna organizácia a dynamické správanie surfaktantu opísané v predchádzajúcich častiach predstavujú molekulárny a biofyzikálny základ, prostredníctvom ktorého surfaktant tieto mechanické vlastnosti pľúc ovplyvňuje.

Kľúčovým mechanizmom je schopnosť surfaktantového filmu meniť povrchové napätie v závislosti od veľkosti alveolárneho povrchu. Pri zmenšovaní alveolárnej plochy sa film komprimuje a povrchové napätie klesá, čím sa obmedzuje tendencia alveolárnych jednotiek ku kolapsu pri nízkych pľúcnych objemoch. Pri zväčšovaní alveolárneho povrchu sa film opätovne rozprestiera a dopĺňa materiálom zo subpovrchového rezervoára. Dynamická výmena medzi povrchovou monovrstvou a subpovrchovými štruktúrami tak umožňuje zachovať funkciu surfaktantu počas opakovaných dychových cyklov.

Zníženie povrchového napätia redukuje zložku elastického spätného ťahu pľúc, ktorá vzniká na rozhraní vzduch – tekutina. Dôsledkom je zvýšenie poddajnosti pľúc a zníženie tlaku potrebného na dosiahnutie určitej zmeny pľúcneho objemu. Súčasne sa znižuje mechanická práca potrebná na ventiláciu.

Dynamické zmeny povrchového napätia počas nádychu a výdychu sa podieľajú aj na rozdielnom priebehu mechanických vlastností pľúc v jednotlivých fázach dychového cyklu. Spolu s viskoelastickými vlastnosťami pľúcneho tkaniva a otváraním a uzatváraním alveolárnych jednotiek prispievajú k hysteréze tlakovo-objemovej krivky pľúc (obr. 17).

Organizácia surfaktantu na alveolárnom rozhraní tak prepája molekulárne vlastnosti jeho lipidových a proteínových zložiek s mechanickou stabilitou alveol, poddajnosťou pľúc a energetickou efektívnosťou dýchania.



Obrázok 17 *Vzťah medzi objemom pľúc, transpulmonálnym tlakom a povrchovým napätím počas inflácie a deflácie pľúc. (A) Tlakovo-objemová (P–V) krivka pri postupnej inflácii a následnej deflácii. Objem pľúc sa menil po krokoch a po každom kroku bol krátko udržiavaný konštantný, aby sa systém priblížil k rovnovážnemu stavu. Časovo závislá relaxácia tlaku pri konštantnom objeme, súvisiaca s reorganizáciou surfaktantového filmu, sa na krivke prejavuje ako malé „zuby". (B) Vzťah medzi povrchovým napätím surfaktantového filmu (γ) a objemom pľúc. Počas inflácie sa alveolárny povrch zväčšuje a surfaktantový film sa prechodne „zrieďuje", čo vedie k vzostupu povrchového napätia; následná adsorpcia surfaktantu ho znižuje. Počas exspíria kompresia surfaktantového filmu umožňuje výrazný pokles povrchového napätia. Vertikálna čiara označuje približnú rovnovážnu hodnotu povrchového napätia (γ_EQ ≈ 28 dyn/cm). Obrázok znázorňuje hysterézu medzi infláciou a deflácioua jej súvis s dynamikou surfaktantového filmu. Poznámka: Pôvodný zdroj uvádza povrchové napätie v jednotkách dyn/cm, ktoré sú numericky ekvivalentné jednotkám mN/m používaným v sústave SI (1 dyn/cm = 1 mN/m) (zdroj Smith a Stamenovic, 1986).*

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.5

Bachofen H et al. Relations among alveolar surface tension, surface area, volume, and recoil pressure. J Appl Physiol (1985). 1987;62(5):1878–1887.

Collada A et al. Studying the interfacial activity and structure of pulmonary surfactant complexes. Chem Phys Lipids. 2025;266:105459.
Crane JM, Hall SB. Rapid compression transforms interfacial monolayers of pulmonary surfactant. Biophys J. 2001;80(4):1863–1872.
Discher BM et al. Phase separation in monolayers of pulmonary surfactant phospholipids at the air–water interface: composition and structure. Biophys J. 1999;77(4):2051–2061.
Echaide M et al. Restoring pulmonary surfactant membranes and films at the respiratory surface. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017;1859(9 Pt B):1725–1739.
Francis I, Saha SC. Surface tension effects on flow dynamics and alveolar mechanics in the acinar region of human lung. Heliyon. 2022 Oct 12;8(10):e11026.
Fröhlich E. Non-Cellular Layers of the Respiratory Tract: Protection against Pathogens and Target for Drug Delivery. Pharmaceutics. 2022;14(5):992.
Hall SB, Zuo YY. The biophysical function of pulmonary surfactant. Biophys J. 2024;123(12):1519–1530.
Keating E et al. A modified squeeze-out mechanism for generating high surface pressures with pulmonary surfactant. Biochim Biophys Acta. 2012;1818(5):1225–1234.
Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. New York: Marcel Dekker; 2000.
Possmayer F et al. Pulmonary surfactant: a mighty thin film. Chem Rev. 2023;123(23):13209–13290.
Roke S et al. Vibrational spectroscopic investigation of the phase diagram of a biomimetic lipid monolayer. Phys Rev Lett. 2003;90(12):128101.
Scarpelli EM. The alveolar surface network: a new anatomy and its physiological significance. Anat Rec. 1998;251(4):491–527.
Smith JC, Stamenovic D. Surface forces in lungs. I. Alveolar surface tension-lung volume relationships. J Appl Physiol (1985). 1986;60(4):1341-50.
West JB, Luks AM. West's Respiratory Physiology: The Essentials. 11th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2021.
Yan W et al. The melting of pulmonary surfactant monolayers. J Appl Physiol (1985). 2007;102(5):1739–1745.
Zhang H et al. On the low surface tension of lung surfactant. Langmuir. 2011;27(13):8351–8358.
Zuo YY, Possmayer F. How does pulmonary surfactant reduce surface tension to very low values? J Appl Physiol (1985). 2007;102(5):1733–1734.
Zuo YY et al. Current perspectives in pulmonary surfactant—Inhibition, enhancement and evaluation. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(10):1947–1977.

2.6 Distribúcia, heterogenita a pohyb surfaktantu v pľúcach

2.6.1 Heterogenita surfaktantu v pľúcach

Pľúcny surfaktant je často opisovaný ako homogénna fosfolipidovo-proteínová vrstva pokrývajúca alveolárny povrch. V pľúcach však surfaktantový systém vykazuje výraznú priestorovú aj štrukturálnu heterogenitu. Táto heterogenita sa prejavuje na viacerých úrovniach, od regionálneho rozloženia surfaktantu v rôznych častiach pľúc cez rozdiely medzi alveolárnym a bronchiálnym prostredím až po variabilitu v organizácii surfaktantových agregátov.

Distribúcia surfaktantu je ovplyvnená anatomickou architektúrou pľúc, gravitačnými silami, mechanickými vlastnosťami alveolárnej steny, vlastnosťami samotného surfaktantu (napr. schopnosť rozptyľovať sa po povrchu alveol) a dynamikou ventilácie. V dôsledku týchto faktorov sa surfaktant neustále presúva medzi jednotlivými segmentami pľúc a medzi povrchovou vrstvou a hypofázou. Zároveň sa v dôsledku týchto faktorov môže medzi jednotlivými časťami pľúc líšiť koncentrácia surfaktantu, jeho molekulárne zloženie aj biofyzikálna aktivita.

Regionálne rozdiely v distribúcii a funkcii surfaktantu majú významné fyziologické dôsledky. Lokálne zvýšenie povrchového napätia môže viesť k nestabilite alveol, podporovať vznik atelektáz a meniť mechanické vlastnosti pľúcneho parenchýmu. Heterogénna distribúcia surfaktantu sa zároveň považuje za jeden z mechanizmov prispievajúcich k rozvoju ventilátorom indukovaného poškodenia pľúc a môže ovplyvňovať účinnosť exogénne podaného surfaktantu.

Regionálne rozdiely medzi apikálnymi a bazálnymi oblasťami pľúc

Jedným z hlavných zdrojov regionálnej variability surfaktantu sú gravitačne podmienené rozdiely v mechanike pľúc. V stoji alebo v sede je transpulmonálny tlak vyšší v apikálnych častiach pľúc, preto sú alveoly v týchto oblastiach už pri funkčnej reziduálnej kapacite viac rozvinuté. Naopak, alveoly v bazálnych oblastiach majú menší objem a počas dýchania sa ich objem mení výraznejšie.

Tieto mechanické rozdiely ovplyvňujú aj správanie surfaktantového filmu. V bazálnych oblastiach, kde alveoly počas každého dychu prechádzajú väčšími zmenami objemu, je surfaktant vystavený intenzívnejším cyklom kompresie a expanzie. V apikálnych oblastiach sú zmeny alveolárneho objemu menšie, a preto sú aj mechanické nároky na surfaktantový film odlišné. V dôsledku toho dochádza k menšej reorganizácii surfaktantovej monovrstvy a k menšej mobilizácii lipidov z hypofázy. Surfaktantový systém je v týchto oblastiach preto

dynamicky menej aktívny než v bazálnych častiach pľúc, kde väčšie zmeny alveolárneho objemu vyžadujú intenzívnejšiu reorganizáciu a redistribúciu surfaktantu počas každého respiračného cyklu. Regionálne rozdiely v alveolárnej mechanike sa tak premietajú do rozdielov v lokálnej organizácii a funkcii surfaktantu.

Rozdiely medzi alveolárnym a bronchiálnym prostredím

Heterogenita surfaktantu sa prejavuje aj medzi jednotlivými segmentami pľúc. V alveolárnom priestore má surfaktant optimálne vlastnosti pre reguláciu povrchového napätia pri cyklických zmenách objemu alveol. Jeho zloženie je charakterizované vysokým podielom fosfatidylcholínu, najmä DPPC, a prítomnosťou SP-B a SP-C.

V terminálnych bronchioloch sa nachádza surfaktantový materiál s odlišným zložením, ide o surfaktant dýchacích ciest. Okrem materiálu transportovaného z alveol prispievajú k jeho zloženiu aj sekrečné epitelové bunky bronchiolov , ktoré produkujú niektoré surfaktantové proteíny, najmä SP-A a SP-D. V dôsledku kontaktu s hlienom a bronchiálnym sekrétom obsahuje tento surfaktant vyšší podiel proteínov, glykoproteínov a mucínových komponentov. Surfaktant v tejto oblasti prispieva k najmä stabilizácii lumen dýchacích ciest počas výdychu a podieľa sa na mukociliárnom transporte.

Heterogenita lipidového zloženia

Analýza surfaktantových fosfolipidov ukazuje, že v ich molekulárnom zložení sú regionálne rozdiely. Týkajú sa pomeru medzi jednotlivými typmi fosfolipidov, napríklad medzi fosfatidylcholínom, fosfatidylglycerolom a ďalšími aniónovými fosfolipidmi, pričom tieto rozdiely ovplyvňujú fyzikálne vlastnosti surfaktantového filmu, najmä jeho schopnosť vytvárať kondenzované domény pri kompresii.

Táto regionálna heterogenita je pravdepodobne výsledkom kombinácie viacerých faktorov, vrátane rozdielnej aktivity pneumocytov II. typu, regionálnych rozdielov vo ventilácii a lokálneho metabolizmu surfaktantu.

2.6.2 Heterogenita surfaktantových agregátov

Alveolárny surfaktant existuje ako súbor lipidovo-proteínových agregátov, ktoré sa líšia veľkosťou, ultraštruktúrou a biofyzikálnou aktivitou. Rozvoj biochemických metodík pri výskume surfaktantu v minulosti umožnil rozdelenie surfaktantu na dve hlavné frakcie: veľké agregáty (large aggregates, LA) a malé agregáty (small aggregates, SA). Tento systém zahŕňa

rôzne formy surfaktantu od vysoko povrchovo aktívnych štruktúr až po menej aktívne alebo degradované frakcie.

Veľké agregáty (LA)

Veľké agregáty predstavujú biofyzikálne najaktívnejšiu frakciu surfaktantu, ktorá je zodpovedná za jeho schopnosť dosahovať veľmi nízke hodnoty povrchového napätia počas dychového cyklu. Morfologicky zahŕňajú najmä multilamelárne štruktúry, tubulárny myelín a ďalšie vysoko organizované lipidovo-proteínové komplexy. Tieto štruktúry vznikajú po exocytóze lamelárnych teliesok a predstavujú bezprostredný zdroj materiálu pre tvorbu povrchovej monovrstvy.

Z hľadiska zloženia sú veľké agregáty charakterizované vysokým obsahom fosfolipidov, najmä DPPC, a prítomnosťou SP-B a SP-C. Veľké agregáty sa preto považujú za zásobáreň funkčného surfaktantu.

Malé agregáty (SA)

Malé agregáty predstavujú frakciu surfaktantu s výrazne nižšou biofyzikálnou aktivitou. Ide o menšie lipidové vezikuly a menej organizované lipidovo-proteínové štruktúry, ktoré vznikajú postupnou reorganizáciou veľkých surfaktantových agregátov počas opakovaných dychových cyklov.

Mechanizmus tejto reorganizácie je úzko viazaný na cyklickú kompresiu a reexpanziu surfaktantového filmu počas dýchania. Opakované zmeny plochy vedú k postupnému uvoľňovaniu lipidov z povrchovej monovrstvy a k prestavbe multilamelárnych štruktúr na menšie agregáty. Tento prechod je sprevádzaný relatívnym poklesom obsahu SP-B a SP-C a znížením schopnosti týchto štruktúr opätovne vytvoriť stabilný povrchový film. Sú selektívne vychytávané pneumocytmi II. typu, kde môžu vstupovať do recyklačných dráh alebo sú degradované alveolárnymi makrofágmi.

Dynamická rovnováha medzi veľkými a malými agregátmi

Pomer medzi veľkými (LA) a malými agregátmi (SA) predstavuje dôležitý ukazovateľ funkčného stavu surfaktantového systému. Za fyziologických podmienok prevládajú vo funkčne aktívnej frakcii surfaktantu veľké agregáty, ktoré obsahujú vyšší podiel fosfolipidov a surfaktantových proteínov a vykazujú vysokú schopnosť rýchlo sa adsorbovať na rozhranie vzduch – tekutina a znižovať povrchové napätie.

Počas opakovaných dychových cyklov dochádza k postupnej prestavbe extracelulárneho surfaktantu a k transformácii časti veľkých agregátov na menšie, menej povrchovo aktívne formy. Tento proces predstavuje súčasť prirodzeného obratu surfaktantu. Malé agregáty sú následne odstraňované z alveolárneho priestoru alebo sa ich zložky recyklujú, pričom významnú úlohu zohrávajú pneumocyty II. typu a alveolárne makrofágy. Straty funkčne aktívneho surfaktantu sú za fyziologických podmienok kompenzované jeho syntézou, intracelulárnym skladovaním a uvoľňovaním z pneumocytov II. typu. Tým sa udržiava dynamická rovnováha medzi tvorbou, prestavbou, recykláciou a degradáciou surfaktantových komponentov.

Pri patologických stavoch sa táto rovnováha môže narušiť a posunúť smerom k zvýšenému zastúpeniu malých agregátov. Takýto posun bol pozorovaný napríklad pri akútnom poškodení pľúc a ARDS, pri výraznej alveolárnej zápalovej odpovedi alebo pri pôsobení látok schopných surfaktant inaktivovať. K poruche funkcie prispieva aj prienik plazmatických proteínov do alveolárneho priestoru pri zvýšenej permeabilite alveolokapilárnej membrány, ako aj pôsobenie enzýmov a oxidačných procesov, ktoré môžu meniť štruktúru lipidových a proteínových zložiek surfaktantu.

Zvýšenie podielu SA a súčasný pokles LA frakcie vedú k zníženiu celkovej povrchovej aktivity surfaktantového systému. Film sa pomalšie obnovuje na alveolárnom rozhraní a pri kompresii dosahuje vyššie hodnoty povrchového napätia. Dôsledkom je znížená stabilita alveol, zvýšená tendencia k ich kolapsu pri nízkych pľúcnych objemoch a zvýšenie práce potrebnej na opätovné otvorenie nestabilných alveolárnych jednotiek. Pomer LA/SA preto odráža nielen množstvo surfaktantu v alveolárnom priestore, ale predovšetkým jeho funkčný a metabolický stav.

2.6.3 Surfaktant v dýchacích cestách

Lipidovo-proteínové zložky surfaktantu boli identifikované aj v epitelovej tekutine bronchiálneho stromu, vrátane terminálnych a respiračných bronchiolov. Tento tzv. bronchiálny surfaktant má odlišné zloženie a plní čiastočne odlišné fyziologické funkcie ako surfaktant v alveolách.

Bronchiálny surfaktant

V dýchacích cestách tvorí tekutinu pokrývajúcu povrch epitelu periciliárna vrstva a nad ňou uložená mukózna vrstva. V klasickom modeli sa tieto zložky označovali ako sól a gél. Súčasné predstavy však opisujú periciliárnu vrstvu skôr ako organizovanú makromolekulovú štruktúru

tvorenú vodným prostredím, membránovo viazanými mucínmi a ďalšími glykoproteínmi. Tento tzv. model gel-on-brush vysvetľuje oddelenie mukóznej vrstvy od povrchu epitelu a vytvára vhodné prostredie pre pohyb riasiniek.

Surfaktantové lipidy sú prítomné aj v konduktívnej časti dýchacích ciest. Surfaktant sa nachádza na rozhraní vzduch – tekutina, pričom surfaktantové fosfolipidy a membránové štruktúry boli identifikované aj v tekutine pokrývajúcej epitel. Surfaktant tak prispieva k regulácii povrchového napätia, stabilite malých dýchacích ciest a môže ovplyvňovať reologické vlastnosti hlienu a mukociliárny transport.

Hlavným miestom syntézy pľúcneho surfaktantu sú alveolárne pneumocyty II. typu. Časť surfaktantového materiálu prítomného v dýchacích cestách pravdepodobne pochádza z alveolárneho priestoru, niektoré jeho zložky však vznikajú aj lokálne v epiteli dýchacích ciest. Club bunky produkujú viaceré surfaktantové proteíny, najmä SP-A, SP-D a prekurzor SP-B, zatiaľ čo syntéza SP-C je charakteristická predovšetkým pre pneumocyty II. typu. Lokálna syntéza a uvoľňovanie fosfolipidových komponentov boli preukázané aj v epiteli dýchacích ciest.

Menšia časť surfaktantového materiálu sa postupne presúva z periférnych oblastí pľúc smerom do proximálnejších dýchacích ciest a následne sa môže odstrániť mukociliárnym transportom. K tomuto pohybu môžu prispievať povrchové sily, gradienty povrchového napätia a mechanické zmeny sprevádzajúce dýchanie.

Zloženie surfaktantového materiálu v dýchacích cestách nie je totožné vo všetkých jeho zložkách s funkčne aktívnym alveolárnym surfaktantom. Fosfolipidové zloženie môže byť veľmi podobné, avšak surfaktant izolovaný z dýchacích ciest vykazuje nižšiu schopnosť dosahovať veľmi nízke povrchové napätie a nižšie zastúpenie niektorých surfaktantových proteínov, najmä SP-B a SP-C. V dýchacích cestách sa preto popri biofyzikálnej funkcii surfaktantu výraznejšie uplatňujú jeho úlohy pri stabilizácii malých dýchacích ciest, mukociliárnom transporte a lokálnej imunitnej obrane.

Funkcia bronchiálneho surfaktantu

Jednou z dôležitých funkcií bronchiálneho surfaktantu je modulácia vlastností tekutinovej vrstvy pokrývajúcej epitel dýchacích ciest. Prítomnosť fosfolipidov znižuje povrchové napätie tekutinového filmu, zabraňuje jeho vysychaniu a ovplyvňuje interakciu medzi fázou sól a gél. Týmto spôsobom surfaktant prispieva k stabilite tekutinového filmu a k optimalizácii podmienok pre pohyb riasiniek. Zmeny v zložení bronchiálneho surfaktantu môžu ovplyvniť viskoelastické vlastnosti hlienu a tým aj efektivitu mukociliárneho transportu.

Okrem mechanickej funkcie sa v dýchacích cestách uplatňuje aj imunologická aktivita surfaktantových proteínov. Proteíny SP-A a SP-D sa podieľajú na rozpoznávaní mikroorganizmov a modulujú lokálnu zápalovú odpoveď, čím prispievajú k obranným mechanizmom respiračného epitelu.
Prítomnosť surfaktantu v dýchacích cestách tak rozširuje funkčný význam surfaktantového systému nad rámec alveolárnej mechaniky, pričom sa tento systém podieľa aj na transportných a obranných mechanizmoch respiračného epitelu.

2.6.4 Pohyb surfaktantu v pľúcach

Po uvoľnení do alveolárneho priestoru sa surfaktant redistribuuje medzi jednotlivými alveolami a medzi rôznymi fázami alveolárnej tekutinovej vrstvy, ako aj medzi alveolami a dýchacími cestami, prípadne sa pohybuje ďalej v dýchacích cestách. Tento transport je sprostredkovaný kombináciou fyzikálnych mechanizmov, ktoré pôsobia na rozhraní vzduch – tekutina aj v hypofáze. Pohyb surfaktantu je ovplyvnený najmä gradientmi povrchového napätia, prúdením alveolárnej tekutiny a mechanickými deformáciami alveol počas ventilácie. Tieto procesy zabezpečujú redistribúciu surfaktantových lipidov medzi jednotlivými alveolami a prispievajú k vyrovnávaniu lokálnych rozdielov v povrchovom napätí, čím udržiavajú funkčnú stabilitu alveolárneho systému.

Objemové prúdenie alveolárnej tekutiny

Jedným zo základných mechanizmov transportu surfaktantu je prúdenie epitelovej tekutinovej vrstvy alveol označované ako objemové prúdenie (bulk flow). Pohyb tekutiny môže byť vyvolaný rozdielmi v alveolárnom tlaku, regionálnymi zmenami ventilácie alebo mikroskopickými pohybmi alveolárnych stien počas dychového cyklu.
Tento proces vedie k presunu surfaktantových agregátov a lipidových vezikúl v hypofáze. Objemové prúdenie tak prispieva k redistribúcii surfaktantu medzi susediacimi alveolami a môže ovplyvňovať lokálnu koncentráciu surfaktantu.

Marangoniho prúdenie

Významným mechanizmom transportu surfaktantu po alveolárnom povrchu je Marangoniho prúdenie, ktoré vzniká v dôsledku gradientov povrchového napätia. Ak existuje rozdiel v povrchovom napätí medzi dvoma oblasťami, tekutina sa pohybuje smerom od oblasti s nižším povrchovým napätím k oblasti s vyšším povrchovým napätím. Tento mechanizmus umožňuje

rýchlu redistribúciu lipidov surfaktantu na rozhraní vzduch – tekutina. Marangoniho prúdenie môže pomáhať vyrovnávať lokálne rozdiely v koncentrácii surfaktantu a stabilizovať alveolárny povrch.

Kapilárne vlny

Zatiaľ čo Marangoniho a objemové prúdenie zabezpečujú transport na „dlhé“ vzdialenosti, kapilárne vlny sa uplatňujú na mikroúrovni. Ide o mikroskopické deformácie povrchovej vrstvy, ktoré vznikajú v dôsledku dynamických zmien povrchového napätia a mechanických pohybov steny alveol pri dýchaní. Kapilárne vlny môžu podporovať redistribúciu lipidov v povrchovej monovrstve a uľahčovať reorganizáciu surfaktantu po kompresii alebo expanzii alveolárneho povrchu. Ich význam spočíva najmä v mikroskopickej reorganizácii surfaktantového filmu počas dychových cyklov.

2.6.5 Mechanické faktory redistribúcie surfaktantu

Distribúcia surfaktantu v pľúcach je úzko prepojená s mechanikou alveol. Alveoly tvoria prepojenú sieť, v ktorej deformácia jednej štruktúry ovplyvňuje mechanické podmienky susedných alveol. Zmeny alveolárneho objemu, lokálne rozdiely vo ventilácii a cyklické otváranie (recruitment) a kolaps (derecruitment) alveol preto významne ovplyvňujú redistribúciu surfaktantu na povrchu alveol.

Vzťah medzi alveolami

Vzťah medzi alveolami (alveolárna interdependencia) je fyziologický mechanizmus v pľúcach, pri ktorom si susediace alveoly poskytujú vzájomnú mechanickú oporu prostredníctvom spoločných stien, spoločných sept a elastických vlákien pľúcneho parenchýmu. To znamená, že zmena objemu jednej alveoly ovplyvňuje mechanické napätie v jej okolí. Ak sa lokálne zníži objem alebo dôjde ku kolapsu alveoly, susedné alveoly sú vystavené zvýšenému mechanickému napätiu.

Tieto interakcie ovplyvňujú aj správanie surfaktantového filmu. Pri nerovnomernej distenzii alveol môže dochádzať k redistribúcii surfaktantu medzi susediacimi alveolami alebo k lokálnym zmenám v jeho koncentrácii na povrchu surfaktantového filmu. Mechanická závislosť tak predstavuje dôležitý faktor pri udržiavaní stability alveolárneho systému.

Recruitment a derecruitment alveol

Ďalším významným mechanickým faktorom je cyklické otváranie a zatváranie alveol, označované ako recruitment a derecruitment. Tieto cykly výrazne ovplyvňujú distribúciu surfaktantu. Pri kolapse (derecruitment) alveol sa môže surfaktant presunúť do susedných oblastí alebo sa vytlačí z povrchového filmu do hypofázy. Pri následnom otvorení alveol nemusí dôjsť k optimálnej obnove surfaktantovej monovrstvy na rozhraní vzduch-tekutina, čo vedie k dočasnému zvýšeniu povrchového napätia. Opakované striedanie recruitmentu a derecruitmentu môžu preto narušať stabilitu surfaktantového filmu.

2.6.6 Dôsledky heterogenity surfaktantu

Heterogénna distribúcia surfaktantu má viaceré dôsledky:

- Regionálne zvýšenie povrchového napätia: lokálne zníženie koncentrácie alebo funkčnej aktivity surfaktantu vedie k zvýšeniu povrchového napätia. To zvyšuje tendenciu alveol kolabovať a prispieva k nerovnomernej ventilácii pľúc.
- Alveolárna nestabilita: rozdiely v povrchovom napätí medzi susediacimi alveolami zvyšujú mechanické napätie v alveolárnych septách a môžu prispievať k poškodeniu alveolárneho epitelu.
- Ventilátorom indukované poškodenie pľúc: heterogénne mechanické vlastnosti pľúc vedú k nerovnomernej distribúcii ventilácie, čo môže viesť k mechanickému poškodeniu pľúcneho parenchýmu. Tomuto mechanizmu sa podrobnejšie venuje nasledujúca kapitola.
- Limitácie surfaktantovej terapie: pri podaní exogénneho surfaktantu nemusí dôjsť k jeho rovnomernej distribúcii. Kolabované alebo tekutinou zaplavené alveoly môžu zostať nedostupné pre podaný surfaktant, čo vedie k nerovnomernej obnove surfaktantového filmu

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.6

Agassandian M, Mallampalli RK. Surfactant phospholipid metabolism. Biochim Biophys Acta. 2013;1831(3):612–625.
Brackenbury AM et al. Evaluation of alveolar surfactant aggregates in vitro and in vivo. Eur Respir J. 2002;19(1):41–46.
Cassidy KJ et al. Surfactant effects in model airway closure experiments. J Appl Physiol (1985). 1999;87(1):415–427.
Dushianthan A et al. Exogenous surfactant therapy for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome – where do we go from here? Crit Care. 2012;16(6):238.

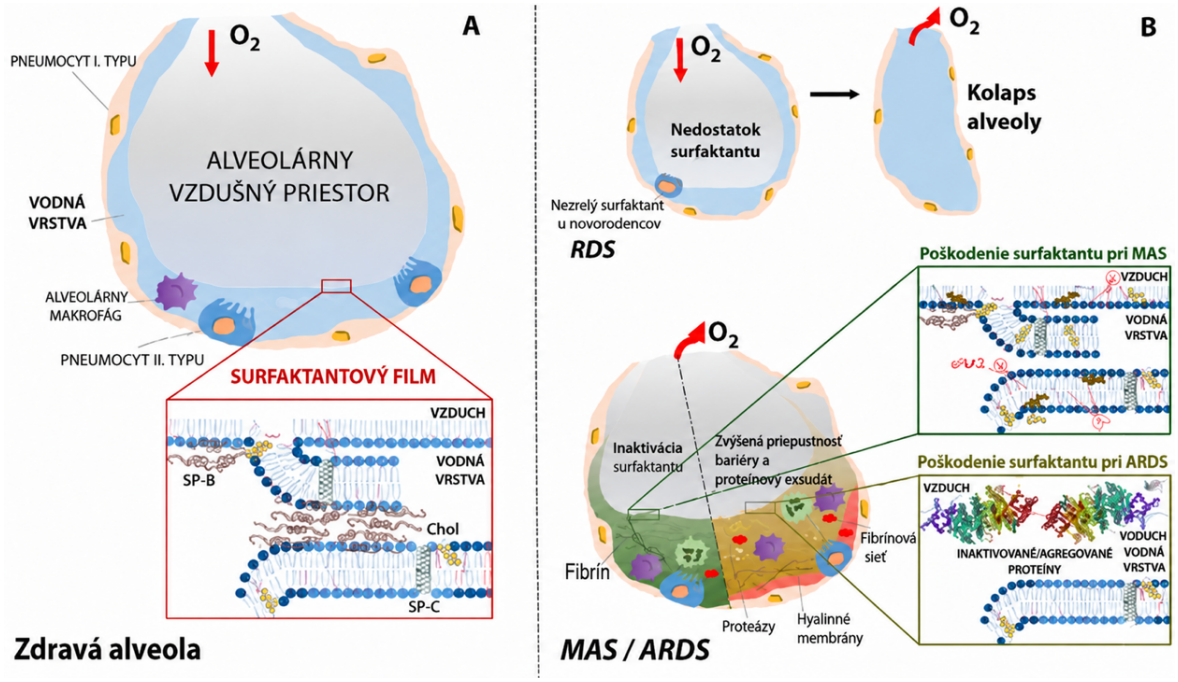
Griese M. Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. Eur Respir J. 1999;13(6):1455–1476.
Günther A et al. Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. Respir Res. 2001;2(6):353–364.
Halpern D et al. Liquid and surfactant delivery into pulmonary airways. Respir Physiol Neurobiol. 2008;163(1–3):222–231.
Hanusrichterova J et al. Factors influencing airway smooth muscle tone: a comprehensive review with a special emphasis on pulmonary surfactant. Am J Physiol Cell Physiol. 2024;327(3):C798–C816.
Hohlfeld J, Fabel H, Hamm H. The role of pulmonary surfactant in obstructive airways disease. Eur Respir J. 1997;10(2):482–491.
Mason RJ, Dobbs LG. Alveolar epithelium and pulmonary surfactant. In: Broaddus VC, Mason RJ, Ernst JD, et al., editors. Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine. 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. p. 134–149.e5.
Otto CM et al. Spatial and temporal heterogeneity of ventilator-associated lung injury after surfactant depletion. J Appl Physiol (1985). 2008;104(5):1485–1494.
Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. Respir Care. 2002;47(7):761–768.
Sauleda ML et al. Coupling of Marangoni flow and capillary waves. J Colloid Interface Sci. 2022;609:374–385.
Steinberg JM et al. Alveolar instability causes early ventilator-induced lung injury independent of neutrophils. Am J Respir Crit Care Med. 2004;169(1):57–63.
Stetten AZ et al. Surfactant-induced Marangoni transport of lipids and therapeutics within the lung. Curr Opin Colloid Interface Sci. 2018;36:58–69.

2.7 Patofyziológia surfaktantu

Pľúcny surfaktant predstavuje kľúčový faktor stability alveolárneho systému a efektívnej mechaniky pľúc. Poruchy jeho syntézy, sekrécie, štrukturálnej integrity alebo funkčnej aktivity vedú k výrazným zmenám povrchového napätia a následne k poruchám ventilácie a výmeny plynov. V patologických stavoch môže byť pľúcny surfaktant znížený kvantitatívne, zmenený vo svojom zložení alebo funkčne inaktivovaný prítomnosťou plazmatických proteínov, zápalových mediátorov či produktov oxidačného stresu.

Tieto zmeny vedú k zvýšeniu povrchového napätia na alveolárnom rozhraní, čo sa prejavuje poklesom pľúcnej poddajnosti, zvýšením mechanickej práce dýchania a zvýšenou tendenciou alveol ku kolapsu počas exspíria. Následná heterogenita ventilácie podporuje vznik ventilačno-perfúznej nerovnováhy a zhoršuje oxygenáciu krvi. Poruchy surfaktantového systému tak predstavujú jeden zo základných patofyziologických mechanizmov viacerých pľúcnych ochorení.

Z hľadiska mechanizmu vzniku ochorenia možno poruchy surfaktantu rozdeliť do niekoľkých základných kategórií. Prvou je primárny deficit surfaktantu, ktorý vzniká najmä v dôsledku nedostatočnej maturácie pneumocytov II. typu a je typický pre syndróm respiračnej tiesne novorodencov (RDS). Druhú skupinu predstavuje sekundárna dysfunkcia surfaktantu, ktorá vzniká pri poškodení surfaktantu alebo poškodení alveolárneho epitelu a zápalovej reakcii v pľúcach, napríklad pri akútnom syndróme respiračnej tiesne (ARDS). Treťou skupinou sú geneticky podmienené poruchy surfaktantového systému spôsobené mutáciami génov kódujúcich surfaktantové proteíny alebo transportné mechanizmy zodpovedné za tvorbu lamelárnych teliesok. Vo všetkých týchto prípadoch dochádza k narušeniu jemnej rovnováhy medzi syntézou, organizáciou a funkciou surfaktantového filmu na povrchu alveol (obr. 18).



Obrázok 18 *Schéma alveol za fyziologických (A) a patologických (B) podmienok. Pravá časť obrázka zobrazuje detail hlavných znakov poruchy surfaktantu pri syndróme respiračnej tiesne (RDS) u novorodencov, syndróme akútnej respiračnej tiesne (ARDS) a syndróme aspirácie mekónia (MAS) (upravené podľa Echaide et al., 2017).*

2.7.1 Primárny deficit surfaktantu

Syndróm respiračnej tiesne (Respiratory distress syndrome, RDS) je spôsobený primárnym deficitom pľúcneho surfaktantu. Vzniká u nedonosených novorodencov, u ktorých ešte nedošlo k dozretiu pneumocytov II. typu. Výsledkom je nezrelý surfaktant, resp. jeho nedostatočné množstvo. V dôsledku toho je povrchové napätie na alveolárnom rozhraní výrazne zvýšené, čo zásadne mení mechanické vlastnosti pľúc.

Produkcia surfaktantu počas fetálneho vývoja postupne narastá v treťom trimestri gravidity, pričom významný nárast syntézy fosfatidylcholínu, najmä DPPC, nastáva približne po 32.–34. týždni gestácie. U predčasne narodených detí je tento proces často nedokončený, čo vedie k nedostatočnej tvorbe funkčného surfaktantu. Okrem nízkej koncentrácie surfaktantu môže byť prítomná aj nezrelosť lamelárnych teliesok a nedostatočná expresia surfaktantových proteínov.

Zvýšené povrchové napätie v alveolách vedie k výraznému nárastu elastického odporu pľúc. Podľa Laplaceovho zákona je tlak potrebný na udržanie otvorenej alveoly nepriamo úmerný jej polomeru a priamo úmerný povrchovému napätiu. Pri nedostatku surfaktantu sa malé alveoly stávajú mechanicky nestabilnými a počas exspíria majú zvýšenú tendenciu k uzatváraniu a derecruitmentu. Opakovaný alebo pretrvávajúci alveolárny kolaps vedie k vzniku

atelektatických oblastí a k výraznému zníženiu funkčnej reziduálnej kapacity pľúc. Pokles počtu ventilovaných, ale naďalej perfundovaných alveol prehlbuje heterogenitu ventilácie a vedie k výraznej ventilačno-perfúznej nerovnováhe.

Časť pľúcneho parenchýmu zostáva neventilovaná, zatiaľ čo perfúzia v týchto oblastiach pretrváva. Výsledkom je vznik pľúcnych skratov a progresívne zhoršovanie oxygenácie krvi. Hypoxémia následne podporuje vazokonstrikciu v pľúcnej cirkulácii a môže viesť k zvýšeniu pľúcneho vaskulárneho odporu. Zvýšené povrchové napätie a nízka pľúcna poddajnosť zároveň výrazne zvyšujú prácu dýchania. Novorodenec musí generovať vysoké transpulmonálne tlaky, aby dokázal otvoriť kolabované alveoly. Tento mechanizmus vedie k rýchlej únave respiračných svalov a k progresii respiračného zlyhania.

Charakteristickým morfologickým nálezom pri RDS je tvorba hyalínnych membrán na alveolárnom povrchu. Tieto štruktúry vznikajú v dôsledku poškodenia alveolárneho epitelu a extravazácie plazmatických proteínov do alveolárneho priestoru. Depozícia fibrínu a bunkového detritu následne vytvára na alveolárnom povrchu membrány, ktoré ešte viac zhoršujú difúziu plynov a funkciu surfaktantu.

Pochopenie patofyziologického mechanizmu RDS viedlo k vývoju účinnej terapie založenej na podávaní exogénneho surfaktantu. Táto liečba umožňuje rýchlu obnovu surfaktantového filmu na alveolárnom rozhraní, znižuje povrchové napätie a vedie k výraznému zlepšeniu pľúcnej poddajnosti a následnej oxygenácie. Predstavuje jeden z najúspešnejších príkladov uplatnenia základného fyziologického výskumu v klinickej praxi.

2.7.2 Sekundárna dysfunkcia surfaktantu

Na rozdiel od neonatálneho RDS, ktorý je spôsobený primárnym deficitom surfaktantu, je pri akútnom syndróme respiračnej tiesne (ARDS) surfaktantový systém poškodený sekundárne v dôsledku rozsiahleho zápalového a štrukturálneho poškodenia alveolokapilárnej membrány. ARDS predstavuje závažnú formu akútneho poškodenia pľúc, ktorá môže vzniknúť pri rôznych klinických stavoch ako sú sepsa, pneumónia, aspirácia žalúdočného obsahu, polytrauma alebo systémová zápalová odpoveď.

Patofyziológia ARDS je charakterizovaná zvýšenou permeabilitou alveolokapilárnej membrány, čo vedie k prenikaniu tekutiny s obsahom plazmatických proteínov do alveolárneho priestoru. Výsledkom je vznik alveolárneho edému bohatého na plazmatické proteíny, ktorý zásadne mení chemické aj biofyzikálne vlastnosti surfaktantového systému. Mechanizmy,

ktorými plazmatické proteíny narúšajú jeho povrchovú aktivitu, sú podrobnejšie opísané v kapitole 2.7.3.

Okrem priamej inhibície surfaktantu dochádza pri ARDS aj k významným zmenám v jeho zložení. Zápalová reakcia vedie k poškodeniu pneumocytov II. typu, čo znižuje syntézu surfaktantových fosfolipidov a proteínov. Súčasne sa mení relatívny pomer jednotlivých lipidov, pričom často dochádza k poklesu koncentrácie DPPC a k relatívnemu zvýšeniu podielu nenasýtených fosfolipidov. Zmenené zloženie môže zhoršiť schopnosť surfaktantu vytvárať stabilný film s nízkym povrchovým napätím.

Významnú úlohu zohráva aj degradácia surfaktantu prostredníctvom zápalových mediátorov a enzýmov. Aktivované neutrofily uvoľňujú proteázy, fosfolipázy a reaktívne formy kyslíka, ktoré môžu poškodzovať fosfolipidy aj surfaktantové proteíny. Oxidačné procesy vedú k modifikácii lipidových molekúl a k narušeniu štruktúry surfaktantového filmu. Tieto procesy ďalej znižujú funkčnú aktivitu surfaktantu a prispievajú k destabilizácii alveol.

Dysfunkcia surfaktantu pri ARDS má výrazné mechanické dôsledky pre pľúcny parenchým. Zvýšenie povrchového napätia na rozhraní vzduch-tekutina vedie k zníženiu pľúcnej poddajnosti a k zvýšeniu elastického odporu pľúc. Alveoly majú zvýšenú tendenciu ku kolapsu počas exspíria, čo vedie k vzniku rozsiahlych atelektáz. Súčasne vzniká výrazná heterogenita ventilácie, pri ktorej sa v pľúcach striedajú kolabované, tekutinou vyplnené a relatívne normálne ventilované alveolárne jednotky. Tento stav vytvára výraznú ventilačno-perfúznu nerovnováhu. Oblasti pľúc s kolabovanými alebo tekutinou vyplnenými alveolami zostávajú perfundované, ale nie ventilované, čo vedie k vzniku pľúcnych skratov a k ťažkej hypoxémii. Súčasne môže dochádzať k opakovanému otváraniu a zatváraniu alveol počas ventilácie, čo zvyšuje mechanické napätie v alveolárnych stenách a prispieva k ďalšiemu poškodeniu pľúcneho tkaniva.

Porucha surfaktantového systému tak predstavuje jeden z centrálnych mechanizmov patofyziológie akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS). Hoci substitučná liečba exogénnym surfaktantom priniesla výrazné zlepšenie prognózy u novorodencov s RDS, jej účinnosť u dospelých pacientov s ARDS je menej jednoznačná. Jedným z dôvodov je komplexná povaha dysfunkcie surfaktantu pri ARDS, ktorá zahŕňa nielen jeho deficit, ale aj jeho kontinuálnu inaktiváciu zápalovým prostredím a rozsiahle poškodenie alveolárneho epitelu. Konkrétne limity surfaktantovej terapie sú uvedené v kapitole 3.3.

2.7.3 Inaktivácia surfaktantu v alveolárnom prostredí

Inaktivácia surfaktantu predstavuje významný patofyziologický mechanizmus pri viacerých formách akútneho poškodenia pľúc vrátane akútneho syndrómu respiračnej tiesne (ARDS), aspiračného poškodenia pľúc obsahom žalúdka alebo mekóniom, alebo pri závažných zápalových procesoch v pľúcach.

Inhibícia surfaktantu plazmatickými proteínmi

Jedným z najvýznamnejších mechanizmov inaktivácie surfaktantu je prítomnosť plazmatických proteínov v alveolárnom priestore. Pri poškodení alveolokapilárnej membrány prenikajú do alveolárnej tekutiny proteíny ako albumín, fibrinogén, imunoglobulíny alebo hemoglobín.

Tieto proteíny majú vlastnú povrchovú aktivitu a rýchlo sa adsorbujú na rozhraní vzduch – tekutina. Vytvárajú interfaciálnu vrstvu, ktorá obmedzuje adsorpciu a rozprestieranie surfaktantových lipidov na povrchu a môže narúšať reorganizáciu už vytvoreného filmu. Výsledkom je znížená schopnosť surfaktantu dosahovať a udržiavať nízke hodnoty povrchového napätia.

Úloha zápalových mediátorov a enzýmov

Zápalová reakcia v pľúcach vedie k aktivácii neutrofilov, makrofágov a ďalších buniek imunitného systému, ktoré uvoľňujú široké spektrum mediátorov. Medzi najdôležitejšie patria proteolytické enzýmy, fosfolipázy a reaktívne formy kyslíka.

Fosfolipázy hydrolyzujú surfaktantové fosfolipidy a vytvárajú produkty, ktoré môžu ďalej zhoršovať vlastnosti povrchového filmu. Proteázy môžu degradovať surfaktantové proteíny, zatiaľ čo reaktívne formy kyslíka spôsobujú peroxidáciu lipidov a oxidačné modifikácie proteínových zložiek vrátane SP-B a SP-C. Význam jednotlivých mechanizmov závisí od typu a intenzity poškodenia, spoločne však znižujú adsorpciu, stabilitu a dynamickú funkciu surfaktantového filmu.

Inaktivácia surfaktantu lipidmi a bunkovým detritom

Pri poškodení alveolárneho epitelu sa do alveolárneho priestoru uvoľňujú fragmenty bunkových membrán, cholesterol a ďalšie lipidové molekuly. Cholesterol je fyziologickou súčasťou surfaktantu, jeho nadmerné zastúpenie alebo narušený pomer k fosfolipidom však môže meniť fluiditu a usporiadanie surfaktantového filmu a znižovať jeho schopnosť dosahovať nízke povrchové napätie.

Okrem lipidov sa v alveolárnej tekutine nachádza aj bunkový detritus, ktorý môže interferovať s adsorpciou surfaktantu a zhoršovať reorganizáciu surfaktantového filmu počas dychového cyklu.

Inaktivácia surfaktantu aspiráciou biologického materiálu

Špecifickým príkladom inaktivácie surfaktantu je aspirácia biologického materiálu, napríklad žalúdočného obsahu alebo mekónia. Mekónium obsahuje vysoké koncentrácie mastných kyselín, žlčových kyselín a ďalších molekúl, ktoré výrazne narušujú organizáciu surfaktantového filmu. Tieto látky interferujú s lipidovou monovrstvou a bránia jej kompresii počas exspíria, čo vedie k zvýšeniu povrchového napätia v alveolách.

2.7.4 Genetické poruchy surfaktantového systému

Popri sekundárnych poruchách funkcie pľúcneho surfaktantu existujú aj zriedkavé geneticky podmienené ochorenia, ktoré sú spôsobené mutáciami génov kódujúcich surfaktantové proteíny alebo proteíny podieľajúce sa na intracelulárnom transporte fosfolipidov v pneumocytoch II. typu. Tieto poruchy vedú k závažným zmenám v syntéze, spracovaní alebo sekrécii súčastí surfaktantu a môžu spôsobovať ťažké formy respiračného zlyhania už v neonatálnom období alebo progresívne intersticiálne pľúcne ochorenia v detstve a dospelosti. Ich diagnostika si často vyžaduje kombináciu genetického vyšetrenia, histologického vyšetrenia pľúcneho tkaniva a analýzy surfaktantových proteínov. Štúdium týchto ochorení významne prispieva k pochopeniu molekulárnych mechanizmov syntézy, transportu a funkcie pľúcneho surfaktantu. Zároveň poskytuje dôležité informácie pre vývoj nových terapeutických prístupov vrátane génovej terapie alebo cielenej farmakologickej modulácie surfaktantového systému.

Deficit surfaktantového proteínu B

Najčastejšou príčinou nedostatku surfaktantového proteínu B (SP-B) sú mutácie génu *SFTPB*, ktorý kóduje SP-B. Ide o najzávažnejšie genetické poruchy surfaktantu. SP-B zohráva zásadnú úlohu pri organizácii lipidových membrán a pri tvorbe stabilného surfaktantového filmu na rozhraní vzduch-tekutina. Úplná absencia funkčného SP-B vedie k závažnej poruche tvorby lamelárnych teliesok a k výrazne zníženej schopnosti surfaktantu adsorbovať sa na alveolárne rozhranie. Klinicky sa tento stav prejavuje ťažkým respiračným zlyhaním krátko po narodení, ktoré je zvyčajne refraktérne na štandardnú liečbu vrátane podania exogénneho surfaktu. Bez transplantácie pľúc je toto ochorenie vo väčšine prípadov letálne.

Zmeny surfaktantového proteínu C

Mutácie génu *SFTPC*, ktorý kóduje surfaktantový proteín C (SP-C), majú odlišný patofyziologický mechanizmus. Na rozdiel od nedostatku SP-B nejde primárne o absenciu funkčného proteínu, ale o poruchu jeho spracovania v endoplazmatickom retikule pneumocytov II. typu. Mutované formy proSP-C majú tendenciu nesprávne sa skladať, čo vedie k akumulácii proteínu v bunkách a k aktivácii mechanizmov bunkového stresu. Chronické poškodenie pneumocytov II. typu následne vedie k rozvoju intersticiálneho pľúcneho ochorenia. Klinická manifestácia je variabilná a môže sa pohybovať od miernych respiračných symptómov až po progresívnu pľúcnu fibrózu.

Deficit transportéra ABCA3

Transportér ABCA3 (ATP-binding cassette transporter A3) je membránový proteín lokalizovaný v membráne lamelárnych teliesok pneumocytov II. typu. Jeho hlavnou funkciou je transport fosfolipidov do lamelárnych teliesok, kde sa formujú surfaktantové lipidové agregáty. Mutácie génu *ABCA3* vedú k poruche intracelulárneho transportu fosfolipidov a k zmenenej štruktúre lamelárnych teliesok. Výsledkom je nedostatočná tvorba funkčného surfaktantu. Klinický obraz sa môže líšiť od ťažkého respiračného zlyhania u novorodencov podobného RDS až po chronické intersticiálne ochorenia pľúc v detskom veku.

Poruchy transkripčnej regulácie surfaktantu

Niektoré genetické poruchy surfaktantového systému sú spôsobené mutáciami transkripčných faktorov, ktoré regulujú expresiu génov surfaktantových proteínov. Jedným z najvýznamnejších je gén *NKX2-1*, ktorý kóduje transkripčný faktor známy aj ako tyreoidálny transkripčný faktor 1 (TTF-1). TTF-1 zohráva kľúčovú úlohu vo vývoji pľúc a v regulácii expresie surfaktantových proteínov. Mutácie tohto génu môžu viesť k syndrómu charakterizovanému kombináciou pľúcneho ochorenia, porúch štítnej žľazy a neurologických symptómov. V pľúcach sa tieto mutácie prejavujú poruchou syntézy surfaktantových proteínov a následnou dysfunkciou surfaktantu.

2.7.5 Surfaktant a ventilátorom indukované poškodenie pľúc

Mechanická ventilácia predstavuje základnú súčasť liečby pacientov s respiračným zlyhaním, za určitých okolností však môže sama prispievať k ďalšiemu poškodeniu pľúcneho tkaniva. Tento proces sa označuje ako ventilátorom indukované poškodenie pľúc (ventilator-induced

lung injury, VILI). VILI vzniká pôsobením viacerých navzájom prepojených mechanizmov, ktoré zahŕňajú nadmerné tlakové a objemové zaťaženie pľúc, opakovaný kolaps a reexpanziu nestabilných alveolárnych jednotiek a následnú aktiváciu zápalovej odpovede. Tieto procesy významne ovplyvňujú aj funkciu pľúcneho surfaktantu.

Medzi základné mechanizmy VILI patria barotrauma, volutrauma, atelektotrauma a biotrauma. Barotrauma súvisí s pôsobením nadmerných tlakov a tlakových gradientov v respiračnom systéme, ktoré môžu pri výraznom prekročení mechanickej tolerancie pľúc viesť k porušeniu alveolárnych štruktúr a k úniku vzduchu mimo alveolárneho priestoru. Volutrauma vzniká pri nadmernom rozťahovaní aerovaných oblastí pľúc, atelektotrauma pri opakovanom kolapse a opätovnom otváraní nestabilných alveolárnych jednotiek a biotrauma predstavuje zápalovú odpoveď vyvolanú mechanickým stresom. Jednotlivé mechanizmy sa navzájom prekrývajú a nemožno ich vnímať ako úplne oddelené procesy.

Významným komponentom VILI je volutrauma, pri ktorej vysoké transpulmonálne tlaky a veľké dychové objemy vedú k nadmernej distenzii alveolárneho parenchýmu. Zväčšenie alveolárneho povrchu mení plošnú hustotu surfaktantových molekúl na rozhraní vzduch – tekutina a môže prechodne zvyšovať povrchové napätie. Opakované zväčšovanie povrchu zároveň zvyšuje nároky na redistribúciu a adsorpciu surfaktantových molekúl z hypofázy na alveolárne rozhranie. Pri dlhodobom alebo výraznom mechanickom zaťažení môže dôjsť k narušeniu organizácie surfaktantového filmu a k poklesu jeho funkčnej rezervy.

Ďalším dôležitým mechanizmom je atelektotrauma, charakterizovaná opakovaným uzatváraním a reexpanziou alveolárnych jednotiek počas dychového cyklu. Ak sú alveoly počas exspíria nestabilné a kolabujú, ich následné otvorenie počas inspíria vyžaduje vyšší otvárací tlak. Tým vznikajú výrazné lokálne gradienty napätia na rozhraní medzi aerovanými a kolabovanými oblasťami. Opakované cykly kolapsu a reexpanzie narúšajú kontinuitu surfaktantového filmu, podporujú jeho redistribúciu a môžu viesť k zníženiu povrchovej aktivity. Výsledkom je ďalšie zvýšenie povrchového napätia a prehlbovanie alveolárnej nestability.

Mechanické poškodenie je úzko spojené so vznikom biotraumy. Mechanotransdukcia v alveolárnych epitelových bunkách, endotelových bunkách a alveolárnych makrofágoch vedie k aktivácii intracelulárnych signálnych dráh a k uvoľňovaniu cytokínov, chemokínov, proteáz a reaktívnych foriem kyslíka. Tieto mediátory môžu poškodzovať pneumocyty II. typu a priamo alebo nepriamo meniť zloženie a funkciu surfaktantu. Oxidačné poškodenie lipidov a proteínov, proteolytická degradácia surfaktantových proteínov a zvýšená priepustnosť alveolokapilárnej membrány prispievajú k postupnej sekundárnej dysfunkcii surfaktantu.

Významným následkom VILI je aj zmena metabolizmu a agregátovej štruktúry surfaktantu, charakterizovaná úbytkom veľkých agregátov (LA) a prírastkom malých (SA), čo vedie k poklesu celkovej povrchovej aktivity surfaktantového systému. Tento proces nie je možné chápať len ako jednoduchú degradáciu surfaktantu, ale skôr ako patologický posun v rovnováhe medzi jeho funkčne aktívnymi a menej aktívnymi formami. Nadmerné mechanické napínanie pneumocytov II. typu môže ovplyvňovať aj syntézu a sekréciu surfaktantu. Krátkodobý mechanický podnet môže stimulovať uvoľňovanie surfaktantu ako adaptačnú odpoveď na zvýšené mechanické zaťaženie. Pri dlhodobom alebo extrémnom strese však môže dôjsť k poškodeniu pneumocytov II. typu, poruche ich metabolickej funkcie a následnému zníženiu syntézy a recyklácie surfaktantových zložiek.

Porucha surfaktantu pri VILI vedie k ďalšiemu zhoršeniu mechaniky pľúc a k vzniku heterogénnej ventilácie. V pľúcnom parenchýme môžu vedľa seba existovať kolabované a nadmerne rozvinuté (distendované) oblasti. Na rozhraní medzi nimi vznikajú vysoké lokálne mechanické napätia, ktoré prispievajú k poškodeniu pľúcneho tkaniva. Surfaktantová dysfunkcia tak nie je len dôsledkom VILI, ale môže sa stať aj mechanizmom, ktorý ďalšie poškodenie zosilňuje a udržiava.

Moderné stratégie umelej pľúcnej ventilácie sa preto zameriavajú na minimalizáciu mechanického stresu a deformácie pľúcneho tkaniva. Použitie nízkych dychových objemov, primerané nastavenie pozitívneho end-exspiračného tlaku, obmedzenie nadmerných transpulmonálnych tlakov a prevencia opakovaného kolapsu alveolárnych jednotiek patria medzi základné princípy protektívnej ventilácie. Ich cieľom je nielen redukovať priame mechanické poškodenie pľúc, ale aj obmedziť sekundárnu dysfunkciu surfaktantu a zachovať stabilitu alveolárneho rozhrania.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 2.7

Abdelaal MA et al. Surfactant therapy for meconium aspiration syndrome in neonates: a systematic overview of systematic reviews and recent clinical trials. J Comp Eff Res. 2020;9(8):527–536.

Albert RK. The role of ventilation-induced surfactant dysfunction and atelectasis in causing acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 2012;185(7):702–708.

Dushianthan A et al. Pulmonary surfactant in adult acute respiratory distress syndrome: current perspectives and future directions. Diagnostics (Basel). 2023;13(18):2964.

Echaide M et al. Restoring pulmonary surfactant membranes and films at the respiratory surface. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017;1859(9 Pt B):1725-1739.

Günther A et al. Surfactant alterations in severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome, and cardiogenic lung edema. Am J Respir Crit Care Med. 1996;153(1):176–184.

Günther A et al. Surfactant alteration and replacement in acute respiratory distress syndrome. Respir Res. 2001;2(6):353–364.

Holm BA, Notter RH. A biophysical mechanism by which plasma proteins inhibit lung surfactant activity. Biochim Biophys Acta. 1988;939(2):197–206.
Krafft MP. Overcoming inactivation of the lung surfactant by serum proteins. Soft Matter. 2015;11(30):5982–5992.
López-Rodríguez E et al. Meconium impairs pulmonary surfactant by a combined action of cholesterol and bile acids. PLoS One. 2011;6(2):e17036.
Matthay MA, Zemans RL. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. Annu Rev Pathol. 2011;6:147–163.
Merola R et al. Ventilator-induced lung injury: the unseen challenge in acute respiratory distress syndrome management. J Clin Med. 2025;14(11):3910.
Nevel RJ, Brennan SK, Wambach JA. Genetic disorders of surfactant metabolism. NeoReviews. 2025;26(5):e328–e338.
Nieman GF et al. Impact of mechanical ventilation on the pathophysiology of progressive acute lung injury. J Appl Physiol (1985). 2015;119(11):1245–1261.
Nogee LM et al. A mutation in the surfactant protein B gene responsible for fatal neonatal respiratory disease in multiple kindreds. J Clin Invest. 1994;93(4):1860–1863.
Nogee LM. Genetic mechanisms of surfactant deficiency. Biol Neonate. 2004;85(4):314–318.
Possmayer F et al. Pulmonary surfactant: a mighty thin film. Chem Rev. 2023;123(23):13209–13290.
Ren X et al. Safety and efficacy of pulmonary surfactant therapy for acute respiratory distress syndrome in children: a systematic review and meta-analysis. BMC Pulm Med. 2025;25(1):250.
Seeger W et al. Surfactant inhibition by plasma proteins: differential sensitivity of various surfactant preparations. Eur Respir J. 1993;6(7):971–977.
Shulenin S et al. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. N Engl J Med. 2004;350(13):1296–1303.
Sweet DG et al. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome: 2025. Neonatology. 2026;123(4):514–539.
Taeusch HW et al. Inactivation of pulmonary surfactant due to serum-inhibited adsorption and reversal by hydrophilic polymers: experimental. Biophys J. 2005;89(3):1769–1779.
van Moorsel CHM, van der Vis JJ, Grutters JC. Genetic disorders of the surfactant system: focus on adult disease. Eur Respir Rev. 2021;30(159):200085.
Wang S et al. The role of pulmonary surfactant in the treatment of acute respiratory distress syndrome. Front Pharmacol. 2021;12:698905.
Whitsett JA et al. Alveolar surfactant homeostasis and the pathogenesis of pulmonary disease. Annu Rev Med. 2010;61:105–119.
Zuo YY et al. Current perspectives in pulmonary surfactant—Inhibition, enhancement and evaluation. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(10):1947–1977.

3 Exogénny surfaktant

Na základe doterajších poznatkov týkajúcich sa primárnej a sekundárnej poruchy telu vlastného, t.j. endogénneho surfaktantu boli vyvinuté exogénne surfaktanty, ktoré môžu nahradiť chýbajúci alebo poškodený surfaktant. Cieľom je obnoviť funkčný surfaktantový film a zlepšiť mechanické vlastnosti pľúc.

Exogénny surfaktant je suspenzia obsahujúca zmes fosfolipidov a surfaktantových proteínov alebo ich syntetických analógov. Po podaní do dýchacích ciest sa tieto molekuly adsorbujú na rozhraní vzduch-tekutina, kde vytvárajú funkčný povrchový film schopný redukovať povrchové napätie a stabilizovať alveoly počas dychového cyklu.

Prvé úspešné pokusy s podaním exogénneho surfaktantu sa uskutočnili v 80. rokoch 20. storočia pri liečbe syndrómu respiračnej tiesne novorodenca. Podanie surfaktantu viedlo k rýchlemu zlepšeniu oxygenácie, zvýšeniu pľúcnej compliance a k výraznému zníženiu mortality u nedonosených novorodencov. Substitučná liečba surfaktantom sa tak stala jedným z najvýznamnejších pokrokov v neonatológii.

V nasledujúcich desaťročiach sa výskum zameral na vývoj rôznych typov surfaktantov a na rozšírenie ich použitia aj pri ďalších formách respiračného zlyhania. Okrem prírodných preparátov izolovaných zo zvieracích pľúc boli vyvinuté aj syntetické surfaktanty obsahujúce analógy SP-B a SP-C. Tieto nové preparáty majú potenciál zlepšiť stabilitu surfaktantového filmu a zvýšiť odolnosť voči jeho inaktivácii v patologicky zmenenom alveolárnom prostredí.

Napriek výraznému úspechu v neonatológii je terapeutické využitie surfaktantu pri ochoreniach dospelých, najmä pri akútnom syndróme respiračnej tiesne (ARDS), oveľa menej efektívne, a preto je predmetom intenzívneho výskumu. Komplexná patofyziológia týchto ochorení, ktorá zahŕňa zápalové poškodenie alveolárneho epitelu, prítomnosť inhibítorov surfaktantu a heterogénnu ventiláciu pľúc, predstavuje významnú výzvu pre účinné podanie exogénneho surfaktantu.

3.1 Typy exogénnych surfaktantov

Aby bol exogénny surfaktant účinný, musí spĺňať niekoľko charakteristík. Po podaní do dýchacích ciest sa musí rýchlo rozšíriť po alveolárnom povrchu, adsorbovať na rozhraní vzduch-tekutina, vytvoriť funkčný povrchový film a počas ventilačného cyklu opakovane tolerovať kompresiu aj reexpanziu alveolárneho povrchu bez straty aktivity. Klinická účinnosť surfaktantu preto nezávisí len od jeho lipidového zloženia, ale aj od prítomnosti funkčných

analógov surfaktantových proteínov, od interakcie s inhibítormi v alveolárnom prostredí a od schopnosti udržať nízke povrchové napätie pri dynamickom zaťažení.

Od zavedenia surfaktantovej terapie do klinickej praxe bolo vyvinutých viacero typov surfaktantových preparátov, ktoré sa líšia pôvodom, molekulárnym zložením a biofyzikálnymi vlastnosťami. Z hľadiska spôsobu prípravy a zloženia možno terapeutické surfaktanty rozdeliť do dvoch základných skupín: prírodné modifikované surfaktanty a syntetické surfaktanty. Zatiaľ čo prírodné prípravky využívajú extrakty zo živočíšneho materiálu a zachovávajú aspoň časť hydrofóbnych surfaktantových proteínov, syntetické prípravky sa vyvíjali postupne od jednoduchých lipidových zmesí až po sofistikované preparáty obsahujúce peptidové analógy SP-B a SP-C.

3.1.1 Prírodné modifikované surfaktanty

Prírodné (živočíšne) surfaktanty sa pripravujú extrakciou z hovädzích alebo prasacích pľúc. Ich hlavnou výhodou je, že popri fosfolipidoch obsahujú aj hydrofóbne proteíny SP-B a SP-C, hoci spravidla v nižších a variabilnejších množstvách než natívny ľudský surfaktant. Prítomnosť týchto proteínov vysvetľuje, prečo boli prírodné surfaktanty v klinickej praxi účinnejšie než prvé syntetické prípravky bez proteínov. Rýchlejšie sa adsorbujú na rozhraní vzduch-tekutina, lepšie reorganizujú lipidový film pri kompresii a expanzii a zvyčajne sú odolnejšie voči inaktivácii pri poškodení alveol.

Významným aspektom prírodných surfaktantov je aj ich komplexné lipidové zloženie, ktoré sa približuje fyziologickému surfaktantu v alveolách. Okrem dominantného DPPC obsahujú široké spektrum ďalších fosfolipidov a neutrálnych lipidov, ktoré prispievajú k optimálnej fluidite membrán, dynamike surfaktantového filmu a jeho schopnosti prispôsobovať sa cyklickým zmenám alveolárnej plochy počas dýchania. Táto molekulárna diverzita podporuje tvorbu stabilného povrchového filmu a zároveň zabezpečuje existenciu rezervoáru lipidov v hypofáze, ktorý je dôležitý pre obnovu surfaktantovej vrstvy počas opakovaných respiračných cyklov.

Výhodou prírodných surfaktantov je rýchly nástup účinku po intratracheálnom podaní, pričom zlepšenie oxygenácie a pokles potreby FiO_2 môže nastať už v priebehu niekoľkých minút po aplikácii. Tento efekt súvisí s distribúciou exogénneho surfaktantu do distálnych dýchacích ciest, obnovením funkčného surfaktantového filmu a následným zvýšením stability alveol. Rýchle zlepšenie mechanických vlastností pľúc umožňuje včasnú redukciu FiO_2 a ventilačných tlakov, čím sa môže obmedziť expozícia nezrelých pľúc hyperoxii a nadmernému

mechanickému zaťaženiu. Klinický význam substitučnej liečby surfaktantom presahuje okamžité zlepšenie pľúcnej mechaniky. U predčasne narodených novorodencov s RDS vedie k zníženiu potreby vysokých inspiračných koncentrácií kyslíka, redukcii potreby a trvania invazívnej mechanickej ventilácie a k nižšiemu výskytu komplikácií súvisiacich s nestabilitou nezrelých pľúc, najmä pneumotoraxu. Významným prínosom je aj zníženie mortality novorodencov s RDS. Surfaktantová substitučná terapia preto predstavuje jednu zo základných kauzálnych intervencií v manažmente novorodeneckého RDS.

Prírodné surfaktanty sú dostupné ako viaceré klinicky používané preparáty, ktoré sa líšia pôvodom, koncentráciou fosfolipidov aj odporúčaným dávkovaním. Medzi najpoužívanejšie patria napríklad poractant alfa (Curosurf) alebo bovinné extrakty ako bovactant (Alveofact), beractant (Survanta) a calfactant (Infasurf). Tieto preparáty majú porovnateľnú účinnosť, hoci sa môžu líšiť v dávkovacom režime, objeme aplikovaného liečiva alebo rýchlosti nástupu účinku. Pre tieto preparáty boli zároveň na základe rozsiahlych klinických štúdií postupne vypracované a optimalizované terapeutické protokoly. Dávka exogénneho surfaktantu závisí od konkrétneho prípravku a jeho fosfolipidového zloženia; pri najčastejšie používaných preparátoch sa pohybuje približne v rozmedzí 100–200 mg fosfolipidov/kg telesnej hmotnosti. Pri pretrvávaní klinických a ventilačno-oxygenačných známok RDS možno podanie surfaktantu opakovať podľa odporúčaného dávkovacieho režimu konkrétneho prípravku. V súčasnej neonatologickej praxi sa surfaktant podáva predovšetkým ako včasná selektívna liečba predčasne narodeným novorodencom s rozvíjajúcim sa RDS a narastajúcou potrebou respiračnej podpory. Rutinné profylaktické podanie bez známok RDS sa pri súčasnom používaní neinvazívnej respiračnej podpory bezprostredne po narodení vo všeobecnosti neodporúča; u extrémne nezrelých novorodencov sa však môže zvažovať veľmi skoré podanie pri vysokom riziku rozvoja závažného RDS.

Zavedenie prírodných surfaktantov zlepšilo prežívanie extrémne nezrelých novorodencov. V kombinácii s prenatálnou liečbou kortikosteroidmi a modernými ventilačnými stratégiami prispelo k výraznému poklesu mortality detí s nízkym gestačným vekom. Prírodné surfaktanty dodnes predstavujú referenčný terapeutický štandard, voči ktorému sa hodnotí účinnosť nových surfaktantov.

Napriek klinickému úspechu však nie sú prírodné surfaktanty ideálne. Sú viazané na živočíšny zdroj, výroba je technologicky náročná, medzi šaržami môže existovať určitá variabilita zloženia a obsah surfaktantových proteínov nie je presne definovaný ani ľahko modifikovateľný (tab. 1). Navyše nie je ich možné racionálne „dizajnovať“ pre špecifické klinické situácie, napríklad pre vyššiu rezistenciu voči inaktivácii proteínmi pri ARDS alebo

pre podanie formou aerosólu. Práve tieto limity vytvorili silný tlak na vývoj syntetických surfaktantov.

Tabuľka 1 Zloženie prírodných surfaktantov (upravené podľa Perez-Gil, 2022).

	Zdroj (zviera)	Zdroj (materiál)	% Fosfolipidy	% DPPC	Doplnené	% Chol	Proteíny
Natívny pľúcny surfaktant	Ošípané	Laváž	80-90	36-54	-	5	SP-B +++, SP-C +++
Alveofact (Bovactant)	Hovädzí dobytok	Laváž	88	39	-	3-4	SP-B ++, SP-C ++
BLES	Hovädzí dobytok	Laváž	95	42	-	4	SP-B ++, SP-C ++
Curosurf (Poractant alfa)	Ošípané	Pľúcne tkanivo	99	35	-	5	SP-B ++, SP-C ++
Infasurf (Calfactant)	Hovädzí dobytok	Laváž	90-94	40	-	5	SP-B ++, SP-C ++
Surfacen	Ošípané	Laváž	91-95	45	-	5	SP-B ++, SP-C ++
Survanta (Beractant)	Hovädzí dobytok	Pľúcne tkanivo	84	75	DPPC, PA, TG	-	SP-B +, SP-C ++

Skratky: DPPC: dipalmitoylfosfatidylcholín, PA: kyselina palmitová, TG: triglyceridy, Chol: cholesterol. Proteíny: relatívne množstvá v porovnaní s plným podielom v natívnom (neupravenom) pľúcnom surfaktante (+++ 100%; ++ 40-70%; + 10-30%)

Rozdiely medzi prírodnými surfaktantovými preparátmi

Hoci všetky klinicky používané prírodné surfaktanty vychádzajú z extraktov živočíšnych pľúc, líšia sa navzájom pôvodom, spôsobom prípravy, koncentráciou fosfolipidov, objemom dávky aj účinnosťou. Tieto rozdiely môžu ovplyvňovať farmakodynamiku preparátu, rýchlosť nástupu účinku aj praktické aspekty jeho podávania v klinickej praxi.

Jedným z najčastejšie používaných preparátov je poractant alfa, komerčne známy ako Curosurf. Tento surfaktant je izolovaný z pľúc ošípaných a vyznačuje sa vysokou koncentráciou fosfolipidov približne 80 mg/ml, čo umožňuje podanie relatívne malej objemovej dávky. Menší objem podanej dávky môže uľahčiť distribúciu surfaktantu v pľúcach novorodenca.

Odporúčaná úvodná dávka je spravidla 200 mg fosfolipidov/kg, čo vedie k rýchlemu zlepšeniu oxygenácie a často k zníženiu potreby opakovanej aplikácie.

Ďalším preparátom je beractant, dostupný pod názvom Survanta. Ide o modifikovaný bovinný extrakt, ktorý obsahuje približne 25 mg fosfolipidov/ml a je doplnený o syntetické lipidy s cieľom stabilizovať jeho zloženie. Vzhľadom na nižšiu koncentráciu fosfolipidov je potrebný väčší objem dávky, aby sa dosiahla terapeutická dávka 100 mg/kg. V klinickej praxi môže vyšší aplikačný objem niektorých surfaktantových prípravkov ovplyvniť techniku a toleranciu podania. Počas intratracheálnej aplikácie sa môžu prechodne objaviť bradykardia, pokles arteriálneho tlaku a desaturácia, prípadne krátkodobé zhoršenie ventilácie v dôsledku čiastočnej obštrukcie dýchacích ciest alebo endotracheálnej kanyly tekutým preparátom.

Medzi bovinné surfaktanty patrí aj calfactant, komerčne označovaný ako Infasurf. Tento preparát je získavaný z lavážnej tekutiny pľúc teliat a obsahuje relatívne vysoký podiel natívnych surfaktantových proteínov. Koncentrácia fosfolipidov je približne 35 mg/ml a odporúčaná dávka je zvyčajne 105 mg/kg. Klinické štúdie ukázali dobrú účinnosť pri liečbe neonatálneho RDS, pričom farmakologické vlastnosti sú v mnohých ohľadoch podobné iným prírodným preparátom. V niektorých európskych krajinách sa používa aj bovinný extrakt bovactant (komerčný názov Alveofact), ktorý obsahuje približne 40 mg fosfolipidov/ml. Odporúčaná dávka sa pohybuje okolo 100 mg/kg, pričom vzhľadom na nižšiu koncentráciu preparátu je potrebné podať väčší objem. Podobne ako ostatné prírodné surfaktanty sa podáva intratracheálne a môže byť aplikovaný opakovane v závislosti od klinickej odpovede. Ďalšími lokálnymi alternatívami sú BLES (Bovine Lipid Extract Surfactant), bovinný surfaktant používaný najmä v Kanade a Surfacen, bovinný surfaktant vyvinutý a používaný na Kube.

Hoci sa jednotlivé prírodné surfaktanty vo viacerých aspektoch líšia, žiadny z preparátov nie je lepší vo všetkých sledovaných ukazovateľoch. Najpresvedčivejšie dôkazy sú dostupné pre porovnanie poractant alfa vs. beractant, pričom poractant alfa podaný vo vyššej úvodnej dávke 200 mg/kg rýchlejšie zlepšuje oxygenáciu, skracuje potrebu ventilačnej podpory, zmenšuje potrebu opakovanej aplikácie a v niektorých analýzach aj znižuje mortalitu v porovnaní s beractantom. Tento rozdiel však pravdepodobne nesúvisí len so samotným typom surfaktantu, ale aj s rozdielnym dávkovacím režimom. Pri porovnaní bovinných surfaktantov, najmä beractantu a calfactantu, sa nepreukázali jednoznačné rozdiely v hlavných klinických ukazovateľoch, ako sú mortalita alebo dĺžka mechanickej ventilácie, hoci v niektorých prácach sa pozorovali rozdiely v dynamike krátkodobej respiračnej odpovede.

3.1.2 Syntetické surfaktanty

Syntetické surfaktanty boli vyvinuté s cieľom zbaviť sa závislosti od živočíšneho materiálu a súčasne vytvoriť preparáty s presne definovaným zložením, vysokou reprodukovateľnosťou, lepšou efektivitou priemyselnej výroby a možnosťou modifikácie ich molekulárneho zloženia. Ich vývoj však ukázal, že samotná prítomnosť fosfolipidov nestačí. Aby bol surfaktant klinicky skutočne účinný, musí byť schopný nielen dosiahnuť nízke statické povrchové napätie, ale aj správnu dynamiku adsorpcie, kompresie, opätovného rozptýlenia a rezistencie voči inhibícii. Preto sa syntetické surfaktanty prirodzene vyvíjali v niekoľkých etapách.

3.1.2.1 Syntetické surfaktanty prvej generácie – lipidové zmesi bez proteínov

Prvú generáciu tvorili čisto lipidové syntetické surfaktanty bez surfaktantových proteínov. Koncepčne išlo o logický prvý krok: ak je hlavným povrchovo aktívnym lipidom natívneho surfaktantu DPPC, potom sa zdalo rozumné vytvoriť terapeutický preparát založený na DPPC, prípadne doplnený o ďalšie zložky zlepšujúce šírenie a adsorpciu. Typickými zástupcami boli Exosurf (colfosceril palmitate) a ALEC (pumactant). Exosurf obsahoval kolfosceril palmitát, hexadekanol a tyloxapol; pumactant bol zmesou DPPC a fosfatidylglycerolu.

Tieto prípravky odhalili zásadný nedostatok liečby surfaktantom a to, že fosfolipidy bez SP-B a SP-C nevedia dostatočne verne napodobniť dynamické správanie natívneho surfaktantu. Bez hydrofóbnych proteínov je adsorpcia na rozhraní vzduch-tekutina pomalšia, reorganizácia filmu pri kompresii menej efektívna a schopnosť obnoviť funkčný film po opakovanom zaťažení obmedzená. Preto sa čoskoro ukázalo, že tieto preparáty síce môžu byť do určitej miery klinicky účinné, avšak oveľa menej ako prírodné surfaktanty. Skúsenosti s prvou generáciou syntetických surfaktantov ukázali na význam prítomnosti surfaktantových proteínov a naznačili, že účinný exogénny surfaktant by mal čo najviac napodobňovať prirodzené zloženie a funkčné vlastnosti natívneho pľúcneho surfaktantu.

3.1.2.2 Syntetické surfaktanty druhej generácie – s jedným peptidovým analógom

Druhá generácia vznikla v snahe prekonať nízku účinnosť čisto lipidových preparátov. Základným predpokladom bolo pridať do zmesi syntetických fosfolipidov peptidový analóg hydrofóbneho surfaktantového proteínu, najčastejšie SP-B, aby sa dosiahla adekvátna adsorpcia a stabilita preparátu. Najvýznamnejším zástupcom tejto generácie bol lucinactant (Surfaxin), ktorý obsahoval fosfolipidy a 21-aminokyselinový peptid sinapultide (KL4), navrhnutý ako

funkčný analóg SP-B. KL4 peptid nie je kópiou prirodzenej aminokyselinovej sekvencie SP-B. Ide o synteticky navrhnutý amfipatický peptid, ktorého opakujúca sa sekvencia leucínu a lyzínu bola koncipovaná tak, aby napodobnila niektoré základné biofyzikálne vlastnosti SP-B pri interakcii s lipidovou membránou. Lucinactant bol vyvinutý a testovaný najmä u predčasne narodených detí s RDS. Iným syntetickým surfaktantom je Venticute, založený na rekombinantnom analógu surfaktantového proteínu C (rSP-C). Testovanie sa primárne sústredilo na dospelých pacientov so syndrómom akútnej respiračnej tiesne (ARDS). Hoci preparát mal schopnosť signifikantne zlepšiť pľúcnu oxygenáciu, neznižoval mortalitu. Limitujúcim faktorom bola najmä variabilita povrchovej aktivity po príprave suspenzie a absencia funkcie sprostredkovanej SP-B, ktorá je zásadná pre stabilitu a dynamické vlastnosti surfaktantového filmu počas dychového cyklu.

Aj druhá generácia syntetických surfaktantov však mala určité obmedzenia. Analóg KL4 dokázal napodobniť niektoré vlastnosti SP-B, ale nebol jeho úplnou molekulárnou ani funkčnou náhradou, ani nesuploval úlohu SP-C. Lucinactant preto síce potvrdil, že využitie peptidových analógov surfaktantových proteínov je realizovateľnou terapeutickou stratégiou, no jeho zloženie stále nedosahovalo komplexnosť prírodných surfaktantov. Nakoniec bol lucinactant v roku 2015 stiahnutý z trhu. Rozhodnutie údajne súviselo s obmedzeným klinickým využitím a ekonomickými aspektmi jeho výroby a distribúcie, pričom neexistovali námietky voči jeho bezpečnosti. Vývoj syntetických surfaktantov sa orientoval najmä na ďalšiu generáciu surfaktantov a na nové spôsoby podania, vrátane aerosolizácie preparátov.

Paralelne s optimalizáciou molekulárneho zloženia sa ukázalo, že limitujúcim faktorom je aj spôsob podania surfaktantu. V tomto kontexte vznikli práškové preparáty typu SMB/B-YL určené na „neinvazívne“ podávanie. Tieto prípravky využívajú syntetické analógy SP-B, ktoré sú s fosfolipidmi (zvyčajne DPPC:POPG) a stabilizačnými pomocnými látkami upravené do formy prášku určeného na inhaláciu. Z pohľadu zloženia teda ide o syntetický surfaktant s jedným peptidovým analógom. Cieľom je umožniť podávanie surfaktantu u spontánne dýchajúcich pacientov a eliminovať potrebu intratracheálneho podania formou bolusu. Po aerosolizácii má tento preparát výbornú povrchovú aktivitu a stabilitu. Analóg B-YL má zároveň vyššiu chemickú stabilitu a odolnosť voči oxidačným vplyvom. Limitujúcim faktorom takejto formy je predovšetkým neistá depozícia v heterogénne ventilovaných oblastiach pľúc, výrazná závislosť účinku od inhalačnej techniky a nedostatok klinicky validovaných dát. Tento koncept preto reprezentuje posun od optimalizácie molekulárneho zloženia surfaktantu k zdokonaleniu jeho spôsobu podania.

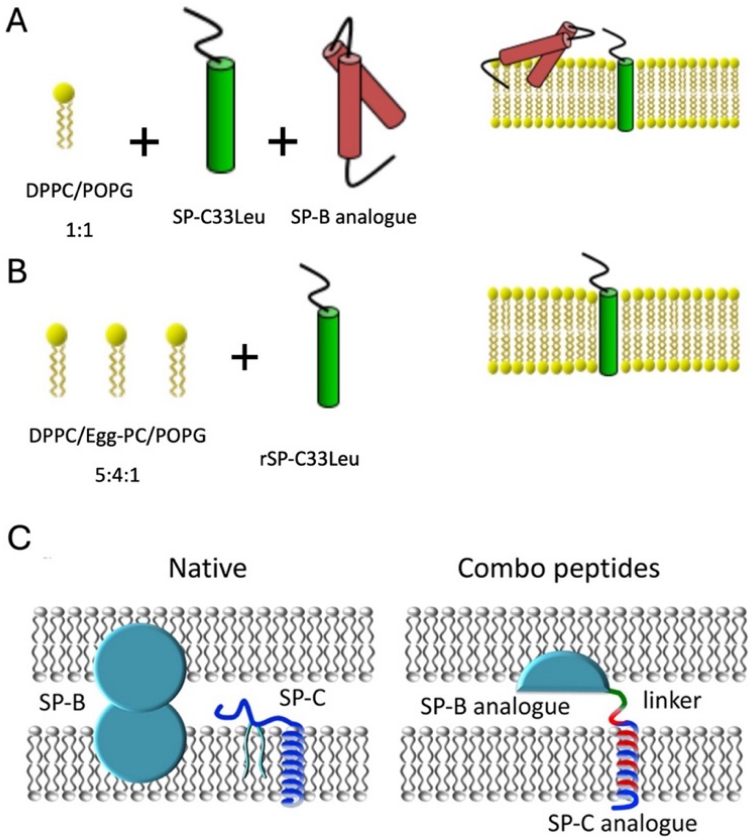
Z pohľadu vývoja surfaktantovej terapie možno druhú generáciu syntetických surfaktantov vnímať ako dôležitý medzistupeň, ktorý definitívne potvrdil potrebu proteínových analógov, ale zároveň ukázal, že jediný peptidový analóg nedokáže plne reprodukovať komplexné funkčné vlastnosti natívneho pľúcneho surfaktantu.

3.1.2.3 Syntetické surfaktanty tretej generácie – s analógmi SP-B a SP-C

Vývoj tretej generácie vychádza z koncepcie, podľa ktorej má zloženie syntetických surfaktantov reprodukovať základné funkčné interakcie hydrofóbnych surfaktantových proteínov SP-B a SP-C v definovanom lipidovom prostredí. Surfaktanty kombinujú analógy SP-B (napr. Mini-B alebo Super Mini-B) a SP-C (napr. SP-C33Leu) vo fosfolipidovej matrici, typicky na báze DPPC/POPC/POPG. V predklinických modeloch RDS a ARDS tieto surfaktanty dosahujú veľmi nízke minimálne povrchové napätie (~0–2 mN/m), rýchlu adsorpciu a vyššiu odolnosť voči inhibícii v porovnaní s preparátmi obsahujúcimi jeden peptid. Ich účinnosť veľmi závisí od presného zloženia lipidovej zložky a hmotnostného pomeru peptidov, čo ich dosť limituje.

Do tejto skupiny patrí surfaktant CHF5633, ktorý tvorí zmes syntetických fosfolipidov a peptidových analógov oboch hydrofóbnych surfaktantových proteínov. V literatúre je CHF5633 často uvádzaný ako reprezentatívny príklad syntetického surfaktantu 3.generácie.

Pre vývoj týchto surfaktantov je dôležité chápať, že SP-B a SP-C plnia v natívnom surfaktante odlišné, ale komplementárne úlohy. Surfaktantové preparáty obsahujúce analógy SP-B aj SP-C dosahujú lepšie biofyzikálne vlastnosti než surfaktanty obsahujúce iba jeden z týchto proteínov (obr. 19).



Obrázok 19 *Schematická reprezentácia peptidových analógov surfaktantových proteínov. (A) Fosfolipidové zloženie a analógy syntetického surfaktantu CHF5633. (B) Fosfolipidové zloženie a analógy syntetického surfaktantu s rekombinantným analógom SP-C33Leu. (C) Schematická štruktúra a hypotetický model Combo peptidu a jeho interakcií s fosfolipidmi. Combo peptid predstavuje spojenie analógov Mini-BLeu a SP-C33Leu do jedného polypeptidu pomocou krátkeho GSG linkera. DPPC dipalmitoylphosphatidylcholine, POPG palmitoyloleoylphosphatidylglycerol, Egg-PC phosphatidylcholine (upravené podľa Basabe-Burgos et al., 2021).*

Funkčnosť CHF5633 bola overovaná nielen v experimente, ale aj v klinických štúdiách u novorodencov s RDS. Počiatočné klinické skúšania ukázali dobrú toleranciu preparátu a rýchle zlepšenie oxygenačných parametrov po jeho podaní. Následná randomizovaná klinická štúdia, v ktorej bol CHF5633 porovnávaný s poractantom alfa, preukázala porovnateľnú účinnosť aj bezpečnostný profil pri liečbe stredne ťažkého až ťažkého RDS. Napriek týmto výsledkom vývoj preparátu CHF5633 zatiaľ neviedol k jeho širšiemu klinickému použitiu a ďalšie veľké klinické štúdie sú nateraz pozastavené. Dôvodom sú údajné strategické a ekonomické rozhodnutia spojené s ďalším vývojom a jeho uvedením preparátu na trh, ako aj potreba rozsiahlejších štúdií potrebných pre regulačné schválenie.

Ďalší prístup vo vývoji syntetických surfaktantov tretej generácie je koncepcia kombinovania peptidových analógov SP-B a SP-C (obr. 19), čo sa odrazilo v Combo surfaktante. Jeho základom je chimérny peptid vytvorený spojením analógov Mini-BLeu (analóg SP-B) a

SP-C33Leu (analóg SP-C). Cieľom konštruktu je vytvoriť jediný peptid schopný kombinovať hlavné funkčné vlastnosti oboch hydrofóbnych surfaktantových proteínov. Z biofyzikálneho hľadiska má takáto kombinácia opodstatnenie. Analógy SP-B podporujú rýchlu adsorpciu lipidov na rozhraní vzduch-tekutina, reorganizáciu membránových štruktúr a tvorbu funkčného povrchového filmu. Analógy SP-C stabilizujú lipidovú monovrstvu počas cyklických zmien alveolárnej plochy a podporujú jej opätovné rozptýlenie počas inspíria. Spojenie oboch funkčných domén v jednej molekule tak umožňuje reprodukovať synergické pôsobenie SP-B a SP-C, ktoré je charakteristické pre natívny surfaktant. V experimentoch preparát obsahujúci Combo peptid dokáže účinne obnoviť funkciu surfaktant v modeloch respiračného zlyhávania. U predčasne narodených králikov s RDS podanie Combo surfaktantu zlepšilo mechaniku pľúc a oxygenáciu. U dospelých králikov s ARDS došlo okrem zlepšenia oxygenácie aj k zmierneniu zápalovej odpovede a stabilizácii pľúcnej ventilácie. Zaujímavým zistením bolo aj to, že Combo surfaktant je odolnejší voči inhibícii plazmatickými proteínmi než prírodný surfaktant poractant alfa.

Najväčší význam syntetických surfaktantov 3. generácie však nespočíva iba vo vývoji konkrétneho preparátu. Ide najmä o potvrdenie konceptu, že je možné dizajnovať klinicky účinný surfaktant, pokiaľ sa pritom zohľadňujú tri kľúčové aspekty: fosfolipidy, molekulárna štruktúra peptidových analógov a ich vzájomné biofyzikálne pôsobenie na rozhraní vzduch – tekutina. Tento prístup preto otvára možnosti nielen pre náhradu prírodných (živočíšnych) preparátov, ale aj pre vývoj surfaktantov optimalizovaných pre konkrétne patologické stavy, napríklad odolnejších voči inhibícii proteínmi, vhodnejších pre aerosolovú aplikáciu alebo so špecifickými protizápalovými vlastnosťami.

Vzhľadom na praktické výhody syntetických surfaktantov oproti preparátom živočíšneho pôvodu (tab. 2) sa pozornosť sústreďuje najmä na vývoj syntetických formulácií s peptidmi, ich možné využitie mimo schválených indikácií a použitie surfaktantu ako nosiča liečiv do pľúc. Exogénny surfaktant by mal čo najlepšie napodobňovať kľúčové štrukturálne a funkčné vlastnosti natívneho surfaktantu. Pri hodnotení jeho účinnosti preto nestačí sledovať iba schopnosť znižovať povrchové napätie, ale aj rýchlosť adsorpcie, stabilitu filmu počas dychového cyklu, odolnosť voči inaktivácii a schopnosť obnovy po narušení. Tieto vlastnosti sú dôležité pri vývoji syntetických surfaktantov novej generácie určených nielen na liečbu neonatálneho RDS, ale aj ochorení so sekundárnou dysfunkciou surfaktantu, vrátane ARDS. Porovnanie prírodných a syntetických preparátov podľa ich biofyzikálnych a praktických vlastností je uvedené v nasledujúcej kapitole.

Tabuľka 2 Porovnanie syntetických a prírodných surfaktantových preparátov (upravené podľa Walther a Waring, 2024).

	Syntetický surfaktant	**Prírodný surfaktant**
Čistota	Chemicky definované zloženie bez kontaminácie a patogénov	Získavaný výplachom alebo extrakciou zo zvieracích pľúc
Konzistencia	Jednotné zloženie, stabilná kvalita a reprodukovateľné vlastnosti	Variabilita v zložení a fyzikálnych vlastnostiach medzi šaržami
Bezpečnosť	Bez rizika prenosu infekčných ochorení	Riziko prenosu zoonóz
Alergické a imunitné reakcie	Žiadne riziko alergických reakcií	Potenciálne riziko v dôsledku proteínov živočíšneho pôvodu
Prispôsobivosť (na mieru)	Možnosť cieleného dizajnu pre zvýšenie účinnosti a bezpečnosti	Obmedzená možnosť modifikácie
Skladovateľnosť	> 3 roky	1 rok
Produkcia a dostupnosť	Škálovateľná produkcia	Závislá od dostupnosti vhodných zvierat
Cena	Variabilná podľa zloženia, spravidla nižšia	Vyššia v dôsledku náročnej kontroly kvality
Akceptácia	Vhodná alternatíva pri odmietaní živočíšnych produktov	Môže byť neprijateľná z etických, náboženských, kultúrnych alebo environmentálnych dôvodov

3.2 Porovnanie exogénnych surfaktantov

Z funkčného hľadiska je rozhodujúce, do akej miery dokáže daný preparát reprodukovať základné biofyzikálne vlastnosti natívneho pľúcneho surfaktantu. Účinnosť surfaktantového preparátu preto závisí od kombinácie viacerých vlastností a to: kinetiky adsorpcie na alveolárny povrch, stability lipidovej monovrstvy počas kompresie a expanzie, schopnosti obnoviť surfaktantový film po jeho narušení a odolnosti voči inhibičným faktorom prítomným v poškodených pľúcach.

Jedným z najdôležitejších rozdielov medzi surfaktantami je rýchlosť adsorpcie na povrchu. V klinickej situácii musí exogénny preparát rýchlo pokryť veľkú alveolárnu plochu. Preparáty obsahujúce surfaktantové proteíny alebo ich funkčné analógy dosahujú v tomto ohľade výrazne lepšie výsledky než jednoduché lipidové preparáty.

Druhým kľúčovým parametrom je stabilita surfaktantového filmu počas opakovaného mechanického zaťaženia pri dýchaní. Surfaktant musí byť schopný udržať veľmi nízke povrchové napätie pri kompresii a zároveň rýchlo obnoviť funkčný film pri opätovnom rozšírení alveolárneho povrchu. Preparáty obsahujúce analógy SP-B a SP-C vykazujú lepšie dynamické vlastnosti, pretože tieto proteíny podporujú reorganizáciu lipidovej monovrstvy a umožňujú rýchle opätovné rozptýlenie surfaktantu pri expanzii alveol.

Ďalším faktorom, ktorý zásadne ovplyvňuje klinickú účinnosť surfaktantovej terapie je odolnosť voči inaktivácii v alveolárnom prostredí. Preparáty obsahujúce funkčné analógy surfaktantových proteínov vykazujú vo všeobecnosti vyššiu rezistenciu voči takýmto inhibičným mechanizmom, pretože proteíny SP-B a SP-C podporujú reorganizáciu lipidovej vrstvy a obnovu surfaktantového filmu aj v nepriaznivých podmienkach.

Dôležitým praktickým aspektom je aj distribúcia surfaktantu v pľúcach po jeho podaní. Po intratracheálnej aplikácii sa surfaktant musí rozšíriť z väčších dýchacích ciest až do periférnych oblastí pľúc. Táto distribúcia závisí nielen od jeho fyzikálnych vlastností, ale aj od ventilácie a od viskozity surfaktantovej suspenzie. Preparáty s optimálnym lipidovým zložením a vhodnou koncentráciou surfaktantových proteínov sa šíria po alveolárnom povrchu efektívnejšie a rovnomernejšie než jednoduché lipidové zmesi.

Z praktického hľadiska možno terapeutické surfaktanty porovnávať podľa toho, do akej miery reprodukujú štrukturálne a funkčné vlastnosti natívneho surfaktantu. Prírodné surfaktanty obsahujú fosfolipidy spolu s natívnymi hydrofóbnymi proteínmi SP-B a SP-C, a preto vykazujú vysokú biofyzikálnu aktivitu. Syntetické surfaktanty prvej generácie pozostávali prevažne z lipidových zložiek a ich účinnosť bola limitovaná absenciou surfaktantových proteínov.

Preparáty novšej generácie preto využívajú syntetické alebo rekombinantné analógy SP-B a SP-C s cieľom čo najvernejšie napodobniť ich synergické pôsobenie a dosiahnuť biofyzikálne vlastnosti blízke natívnemu pľúcnemu surfaktantu.

Výhodou syntetických preparátov je definované zloženie, vysoká reprodukovateľnosť medzi výrobnými šaržami, eliminácia biologického materiálu živočíšneho pôvodu a možnosť cielene modifikovať jednotlivé zložky s cieľom zvýšiť ich odolnosť voči inaktivácii. Ich zavádzanie však vyžaduje dôkladné hodnotenie bezpečnosti. Syntetické peptidové analógy sa svojou štruktúrou môžu odlišovať od natívnych surfaktantových proteínov, a preto je potrebné charakterizovať ich stabilitu, biodegradáciu, lokálnu retenciu v pľúcach, prípadnú systémovú absorpciu a imunogénny potenciál. Hoci doterajšie klinické skúsenosti s niektorými modernými syntetickými preparátmi nepreukázali významné bezpečnostné signály, rozsah dlhodobých údajov je stále menší než pri desaťročia používaných surfaktantoch živočíšneho pôvodu. Vývoj syntetických surfaktantov novej generácie preto musí popri optimalizácii biofyzikálnej účinnosti zahŕňať aj podrobné farmakologické a toxikologické hodnotenie ich stability, biodegradácie, distribúcie a eliminácie.

3.3 Limity surfaktantovej terapie

Napriek výraznému úspechu pri využívaní surfaktantu u novorodencov s RDS je účinnosť takejto liečby pri iných formách respiračného zlyhávania obmedzená. Zatiaľ čo pri primárnom deficite surfaktantu je exogénne podanie schopné priamo nahradiť chýbajúci alveolárny surfaktantový film, pri komplexnejších ochoreniach pľúc sa terapeutický účinok stretáva s viacerými biologickými a fyzikálnymi limitmi. Tieto limity súvisia najmä s distribúciou surfaktantu v pľúcach, jeho interakciou s patologicky zmeneným alveolárnym prostredím a s heterogénnymi mechanickými vlastnosťami ventilovaných pľúc.

Jedným z najvýznamnejších obmedzení je nerovnomerná distribúcia surfaktantu v pľúcach po jeho podaní. Po intratracheálnej aplikácii sa surfaktant najskôr dostáva do väčších dýchacích ciest a následne sa šíri smerom k periférnym dýchacím cestám a alveolám. Tento proces je ovplyvnený gravitačnými silami, ventiláciou jednotlivých pľúcnych oblastí a fyzikálnymi vlastnosťami suspenzie surfaktantu. Za fyziologických okolností sa surfaktant dokáže relatívne rýchlo rozšíriť po alveolárnom povrchu, avšak pri poškodení pľúc, napríklad pri ARDS, je alveolárna ventilácia výrazne heterogénna. Kolabované alebo tekutinou vyplnené alveoly môžu byť pre podaný surfaktant neprístupné, čo vedie k heterogénnej distribúcii surfaktantu v pľúcach.

Ďalším limitujúcim faktorom je inaktivácia surfaktantu v zmenenom alveolárnom prostredí. Na inhibícii funkcie surfaktantu sa podieľajú plazmatické proteíny, aj produkty zápalu, oxidačné radikály a proteolytické enzýmy uvoľňované aktivovanými neutrofilmi. Tieto faktory môžu meniť štruktúru surfaktantového filmu, narúšať schopnosť znižovať povrchové napätie a znižovať tak účinnosť podaného preparátu.

Dôležitú úlohu zohráva aj mechanika ventilovaných pľúc. Pri umelej pľúcnej ventilácii dochádza k opakovaným cyklom kompresie a expanzie alveolárneho povrchu, ktoré môžu meniť organizáciu surfaktantového filmu. V pľúcach pacientov s ARDS sa často vyskytuje výrazná regionálna heterogenita ventilácie. Nerovnomernosť vzniká z dôvodu, že kolabované alveoly susedia s oblasťami s nadmernou infláciou, čo vedie k rozdielnemu zaťaženiu surfaktantového filmu v alveolárnych jednotkách a vedie k jeho redistribúcii alebo lokálnej inaktivácii.

Limitujúcim faktorom surfaktantovej terapie môže byť aj dávka, objem a spôsob podania preparátu. Pri intratracheálnej instilácii vo forme tekutého bolusu sa do dýchacích ciest v krátkom čase dostane vysoká dávka surfaktantu, čo umožňuje rýchly nástup biofyzikálneho účinku. Jeho regionálna distribúcia však závisí od objemu a viskozity podanej suspenzie, gravitácie a polohy tela, priechodnosti dýchacích ciest, spôsobu ventilácie a stupňa heterogenity pľúcneho poškodenia. Distribúcia preto môže zostať nerovnomerná, pričom kolabované alebo tekutinou vyplnené alveolárne jednotky môžu byť pre podaný preparát menej dostupné.

Podanie tekutého surfaktantu tenkým katétrom pri zachovanom spontánnom dýchaní umožňuje vyhnúť sa zavedeniu endotracheálnej kanyly a obmedziť potrebu invazívnej ventilácie. Z biofyzikálneho hľadiska však naďalej ide o intratracheálnu instiláciu, ktorej výsledok závisí od šírenia kvapaliny a regionálnej ventilácie. Aerosolová aplikácia umožňuje postupné podávanie surfaktantu bez tekutého bolusu a teoreticky môže podporiť rovnomernejšiu depozíciu. Do distálnych oblastí pľúc sa však dostáva iba časť vytvorených aerosolových častíc a výsledná alveolárna dávka závisí od ich veľkosti a stability, vlastností nebulizátora, strát v aplikačnom systéme, dychového vzoru a geometrie dýchacích ciest. Klinické výsledky aerosolizovaného surfaktantu sú preto zatiaľ variabilné a suché práškové syntetické formulácie zostávajú prevažne v štádiu predklinického vývoja. Jednotlivé spôsoby podania sa tak nelíšia iba mierou invazívnosti, ale aj rýchlosťou účinku, dosiahnutou alveolárnou dávkou a homogenitou distribúcie surfaktantu.

Ďalším aspektom je načasovanie surfaktantovej terapie. Pri neonatálnom RDS je deficit surfaktantu prítomný už pri narodení a podanie surfaktantu priamo rieši základnú patofyziologickú príčinu ochorenia. Pri ARDS je dysfunkcia surfaktantu sekundárnym

dôsledkom patologických procesov v pľúcach. V takomto prostredí môže byť exogénny surfaktant rýchlo inaktivovaný alebo odstránený z alveolárneho povrchu, čo výrazne obmedzuje jeho terapeutický účinok.

Z uvedeného vyplýva, že terapeutický účinok exogénneho surfaktantu možno chápať ako sled navzájom podmienených procesov. Po podaní do dýchacích ciest musí preparát preniknúť do distálnych oblastí pľúc a rozptýliť sa po alveolárnom epiteli. Jeho lipidovo-proteínové komplexy sa následne adsorbujú na rozhranie vzduch – tekutina, kde vytvárajú nový povrchovo aktívny film alebo sa začleňujú do zvyškov endogénneho surfaktantu. SP-B, SP-C alebo ich funkčné analógy podporujú prenos lipidov na rozhranie, reorganizáciu filmu a jeho obnovu počas cyklickej kompresie a expanzie. Výsledný pokles povrchového napätia znižuje tlak potrebný na otvorenie nestabilných alveolárnych jednotiek, zvyšuje pľúcnu poddajnosť a obmedzuje ich kolaps pri nízkych pľúcnych objemoch.

Fyziologická odpoveď na liečbu však závisí od charakteru surfaktantovej poruchy. Pri neonatálnom RDS podanie exogénneho surfaktantu priamo nahrádza jeho nedostatočné množstvo, zatiaľ čo pri ARDS musí preparát preniknúť do heterogénne ventilovaných a potenciálne zaplavovaných oblastí a zachovať si aktivitu v prítomnosti inhibičných faktorov. Zlepšenie mechanických vlastností pľúc preto môže nastať rýchlo, nemusí však byť sprevádzané úmerným zlepšením oxygenácie. Výmena plynov závisí okrem stability alveol aj od rozsahu poškodenia alveolokapilárnej membrány, regionálnej perfúzie, pľúcneho skratu a možnosti opätovného otvorenia kolabovaných alveolárnych jednotiek. Účinnosť surfaktantovej terapie je preto výsledkom interakcie medzi vlastnosťami preparátu, spôsobom jeho distribúcie a patofyziologickým stavom pľúc.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 3

Bahadue FL, Soll R. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 2012;2012(11):CD001456.

Basabe-Burgos O et al. Recombinant production of SP-B/SP-C chimeric peptides for synthetic surfactant formulations. Biomolecules. 2021;11(7):1040.

Bloom BT et al. Comparison of infasurf (calfactant) and survanta (beractant) in the treatment and prevention of respiratory distress syndrome. Pediatrics. 2005;116(2):e281–e289.

Cummings JJ et al. Aerosolized calfactant for newborns with respiratory distress: a randomized trial. Pediatrics. 2020;146(5):e20193967.

Curstedt T, Johansson J. New synthetic surfactants—basic science. Biol Neonate. 2005;87(4):332–337.

Dushianthan A et al. Pulmonary surfactant in adult ARDS: current perspectives and future directions. Diagnostics (Basel). 2023;13(18):2964.

El-Gendy N et al. Delivery and performance of surfactant replacement therapies to treat pulmonary disorders. Ther Deliv. 2013;4(8):951–980.

Fujiwara T et al. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. Lancet. 1980;1(8159):55–59.
Günther A et al. Surfactant alterations in severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome, and cardiogenic lung edema. Am J Respir Crit Care Med. 1996;153(1):176–184.
Halliday HL. Surfactants: past, present and future. J Perinatol. 2008;28(Suppl 1):S47–S56.
Hammoud MS et al. Randomized clinical trial comparing calfactant and beractant in neonatal respiratory distress syndrome. J Perinatol. 2004;24(11):684–689.
Jobe AH. Pulmonary surfactant therapy. N Engl J Med. 1993;328(12):861–868.
Johansson J, Curstedt T. Synthetic surfactants with SP-B and SP-C analogues to enable worldwide treatment of neonatal respiratory distress syndrome and other lung diseases. J Intern Med. 2019;285(2):165–186.
Lewis JF, Veldhuizen R. The role of exogenous surfactant in the treatment of acute lung injury. Annu Rev Physiol. 2003;65:613–642.
Longest W et al. Preclinical testing of a new dry powder aerosol synthetic lung surfactant formulation and device combination for the treatment of neonatal respiratory distress syndrome. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv. 2025;38(4):215–228.
Mikolka P et al. Synthetic surfactant with a combined SP-B and SP-C analogue is efficient in rabbit models of adult and neonatal respiratory distress syndrome. Transl Res. 2023;262:60–74.
Pérez-Gil J. A recipe for a good clinical pulmonary surfactant. Biomed J. 2022;45(4):615–628.
Ramanathan R et al. A randomized, multicenter masked comparison trial of poractant alfa versus beractant in preterm infants with respiratory distress syndrome. Am J Perinatol. 2004;21(3):109–119.
Ramanathan R et al. Synthetic surfactant CHF5633 compared with poractant alfa in preterm infants with respiratory distress syndrome: a multicenter, double-blind, randomized, controlled clinical trial. J Pediatr. 2020;225:90–96.e1.
Robertson B, Halliday HL. Principles of surfactant replacement. Biochim Biophys Acta. 1998;1408(2–3):346–361.
Sato A, Ikegami M. SP-B and SP-C containing new synthetic surfactant for treatment of extremely immature lamb lung. PLoS One. 2012;7(7):e39392.
Seeger W et al. Surfactant inhibition by plasma proteins: differential sensitivity of various surfactant preparations. Eur Respir J. 1993;6(7):971–977.
Singh N et al. Comparison of animal-derived surfactants for neonatal respiratory distress syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 2015;2015(12):CD010249.
Soll R, Ozek E. Multiple versus single doses of exogenous surfactant for neonatal respiratory distress syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 2009;2009(1):CD000141.
Spragg RG et al. Effect of recombinant surfactant protein C-based surfactant on the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2004;351(9):884–892.
Sweet DG et al. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome: 2025. Neonatology. 2026;123(4):514–539.
Walther FJ, Zasadzinski JA, Waring AJ. Moving on from clinical animal-derived surfactants to peptide-based synthetic pulmonary surfactant. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2024;326(6):L720–L732.
Walther FJ, Zasadzinski JA, Waring AJ. What is new in synthetic lung surfactant protein technology? Expert Rev Respir Med. 2024;18(12):913–917.
Walther FJ, Waring AJ. Moving on from clinical animal-derived surfactants to peptide-based synthetic pulmonary surfactant. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2024;327(6):L883-L889.
Zuo YY et al. Current perspectives in pulmonary surfactant—Inhibition, enhancement and evaluation. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(10):1947–1977.

4 Metódy výskumu pľúcneho surfaktantu

Funkcia pľúcneho surfaktantu sa uplatňuje interakciou jeho lipidov, proteínov a mechanických síl pôsobiacich na rozhraní vzduch – tekutina v alveolách. Priame štúdium týchto procesov v intaktných pľúcach je metodologicky náročné, pretože surfaktantový film je extrémne tenká a dynamická štruktúra, ktorej vlastnosti sa veľmi rýchlo menia. Z tohto dôvodu sa výskum surfaktantu opiera o kombináciu viacerých metód, ktoré umožňujú analyzovať jeho vlastnosti na rôznych úrovniach.

Výskumné stratégie sa zameriavajú na odlišné aspekty surfaktantového systému. Biofyzikálne modely surfaktantového filmu umožňujú skúmať správanie lipidov a surfaktantových proteínov na rozhraní vzduch – tekutina a hodnotiť schopnosť surfaktantu znižovať povrchové napätie. Mikroskopické techniky poskytujú informácie o molekulárnej organizácii surfaktantových štruktúr a o priestorovom usporiadaní lipidových domén. Experimentálne zvieracie modely umožňujú sledovať funkciu surfaktantu v kontexte pľúcneho tkaniva a celého organizmu a hodnotiť účinnosť surfaktantov pre ich klinické využitie. Tieto metódy poskytujú navzájom sa dopĺňajúce informácie o biofyzikálnych a biologických vlastnostiach surfaktantu. Ich kombinácia je preto nevyhnutná pre pochopenie mechanizmov fungovania surfaktantu aj pre vývoj nových surfaktantových preparátov.

4.1 Štúdium biofyzikálnych vlastností surfaktantového filmu

Biofyzikálne vlastnosti pľúcneho surfaktantu sa skúmajú pomocou experimentálnych modelov, ktoré umožňujú analyzovať správanie filmu na rozhraní vzduch – tekutina. Tieto modelové systémy umožňujú v kontrolovaných podmienkach hodnotiť základné vlastnosti surfaktantu:

- rýchlosť adsorpcie
- znižovanie povrchového napätia
- stabilitu filmu počas cyklickej kompresie

Tieto metódy sa líšia spôsobom, akým simulujú mechanické podmienky pôsobiace na surfaktantový film. Niektoré systémy sú určené predovšetkým na štúdium molekulárneho usporiadania surfaktantového filmu, zatiaľ čo iné umožňujú dynamické meranie zmien povrchového napätia počas cyklických zmien plochy povrchu.

Medzi najpoužívanejšie biofyzikálne prístupy patrí štúdium monomolekulových filmov v Langmuirovej vaničke, dynamické meranie povrchového napätia pomocou surfaktometra s pulzujúcou bublinou a analýza surfaktantového filmu na stabilizovanej bubline pomocou

surfaktometra so zachytenou bublinou. Tieto metódy poskytujú komplementárne informácie o štruktúre a funkcii surfaktantového systému.

Pri interpretácii výsledkov je potrebné rozlišovať medzi adsorpciou surfaktantu na rozhranie a vlastnosťami už vytvoreného filmu počas cyklickej kompresie a expanzie. Kinetiku adsorpcie charakterizuje časový pokles povrchového napätia po kontakte surfaktantu s rozhraním. Pri dynamickom meraní sa hodnotí najmä minimálne a maximálne povrchové napätie, relatívna kompresia plochy potrebná na dosiahnutie nízkeho povrchového napätia, rozsah hysterézy a stabilita filmu počas opakovaných cyklov. Tieto ukazovatele spoločne vyjadrujú schopnosť surfaktantu rýchlo obsadiť rozhranie, odolávať kompresii a obnovovať svoju organizáciu počas expanzie. Samotná minimálna hodnota povrchového napätia preto nestačí na úplné posúdenie funkcie surfaktantu. Výsledok ovplyvňuje koncentrácia vzorky, zloženie hypofázy, teplota, rýchlosť a rozsah kompresie, geometria meracieho systému aj spôsob prípravy filmu. Absolútne hodnoty získané rôznymi metódami preto nemožno priamo porovnávať a jednotlivé vzorky by sa mali hodnotiť pri rovnakom experimentálnom usporiadaní a protokole.

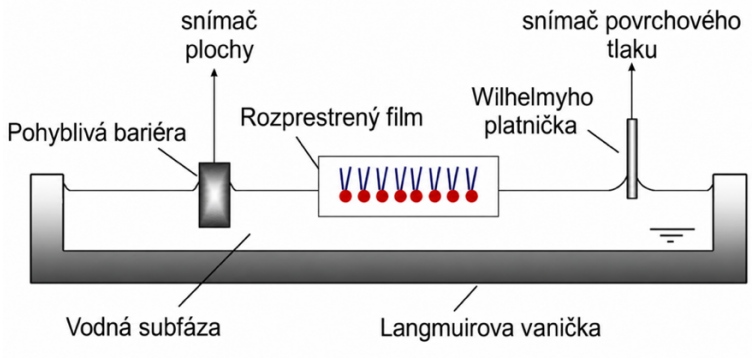
4.1.1 Langmuirova vanička

Langmuirova vanička (Langmuir trough) je experimentálne zariadenie určené na štúdium vlastností tenkých molekulových filmov na rozhraní vzduch – tekutina. Pri experimente sa malé množstvo surfaktantového materiálu aplikuje na povrch vodnej hypofázy, kde sa spontánne rozptýli a vytvorí monomolekulovú vrstvu. Povrchová plocha filmu sa následne mení pomocou pohyblivých bariér, ktoré umožňujú kontrolovanú kompresiu alebo expanziu surfaktantového filmu (obr. 20).

Počas kompresie filmu sa meria závislosť povrchového tlaku od plochy filmu. Tento vzťah sa zvyčajne zobrazuje vo forme izoterm zohľadňujúcich tlak a plochu (π–A izoterm), ktoré poskytujú informácie o organizácii molekúl v monovrstve. Pri postupnom zmenšovaní plochy sa molekuly surfaktantu približujú, čo vedie k prechodu z voľnejšieho usporiadania do kompaktnejších fáz.

Langmuirova vanička sa využíva najmä na štúdium molekulárnej organizácie surfaktantového filmu a analýzu interakcií medzi jeho lipidovými a proteínovými zložkami. Umožňuje sledovať vplyv jednotlivých lipidov, surfaktantových proteínov alebo inhibičných faktorov na štruktúru, stabilitu a fázové správanie filmu. V kombinácii so zobrazovacími metódami, napríklad fluorescenčnou alebo Brewsterovou mikroskopiou, možno analyzovať vznik, distribúciu a reorganizáciu lipidových domén v surfaktantovej monovrstve.

Napriek vysokej informačnej hodnote ide o zjednodušený model alveolárneho rozhrania. Klasické Langmuirove vaničky majú relatívne veľkú plochu rozhrania, a preto môžu vyžadovať väčšie množstvo analyzovaného materiálu, čo predstavuje významné obmedzenie najmä pri práci so vzácnymi biologickými vzorkami alebo experimentálnymi surfaktantovými preparátmi. Ďalším limitom je relatívne pomalá rýchlosť kompresie a expanzie filmu, ktorá nedokáže plne reprodukovať dynamiku zmien alveolárnej plochy počas fyziologického dychového cyklu. Výsledky môžu byť navyše ovplyvnené únikom materiálu z rozhrania, interakciou filmu so stenami vaničky alebo Wilhelmyho doštičkou a odlišnosťami medzi umelo vytvorenou monovrstvou a spontánne adsorbovaným surfaktantovým filmom.



Obrázok 20 *Schematické znázornenie Langmuirovej vaničky. Film vzniká nanesením surfaktantu na rozhranie vzduch – tekutina na povrchu vodnej hypofázy v Langmuirovej vaničke. Pohybom bariéry sa mení plocha monovrstvy; jej zmenšovanie vedie k zvýšeniu povrchového tlaku (t. j. k zníženiu povrchového napätia). Povrchové napätie sa určuje meraním zmeny vertikálnej sily pôsobiacej na Wilhelmyho platničku čiastočne ponorenú do kvapaliny (upravené podľa Zuo et al., 2008).*

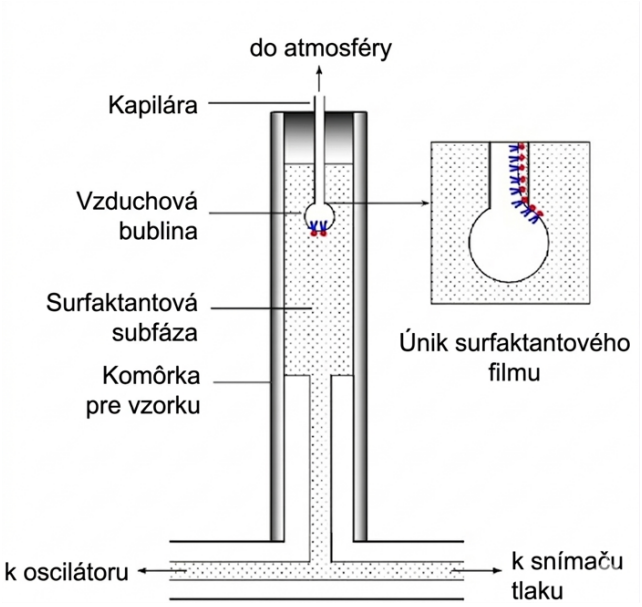
4.1.2 Surfaktometer s pulzujúcou bublinou

Surfaktometer s pulzujúcou bublinou (Pulsating Bubble Surfactometer, PBS) slúži na hodnotenie povrchovej aktivity surfaktantových preparátov v dynamických podmienkach (obr. 21). Princíp metódy spočíva vo vytvorení vzduchovej bubliny v kvapalnom prostredí obsahujúcom surfaktant. Periodickou zmenou objemu bubliny sa cyklicky mení plocha rozhrania vzduch – tekutina, čím sa napodobňujú opakované fázy kompresie a expanzie surfaktantového filmu počas dychového cyklu. Povrchové napätie sa vypočítava na základe Laplaceovej rovnice zo súčasne meraného rozdielu tlakov medzi vnútrom bubliny a okolím a z jej polomeru.

Počas merania možno hodnotiť rýchlosť adsorpcie surfaktantu na rozhranie, schopnosť filmu dosahovať nízke hodnoty povrchového napätia počas kompresie, maximálne a minimálne

povrchové napätie a stabilitu filmu počas opakovaných cyklov pulzácie. Metóda je preto vhodná na porovnávanie biofyzikálnych vlastností rôznych surfaktantových preparátov, hodnotenie ich odolnosti voči inaktivácii a testovanie vplyvu jednotlivých zložiek alebo inhibičných faktorov.

Výhodou PBS je relatívne rýchle a reprodukovateľné hodnotenie funkcie surfaktantu pri dynamických zmenách plochy rozhrania a pomerne nízka spotreba vzorky. Limitáciou je, že geometria a podmienky na povrchu bubliny predstavujú zjednodušený model alveolárneho rozhrania a nereprodukujú úplne mechanické a štrukturálne pomery v pľúcach. Pri veľmi nízkom povrchovom napätí môže navyše dochádzať k deformácii bubliny alebo k úniku časti surfaktantového filmu z rozhrania, čo môže ovplyvniť presnosť merania.



Obrázok 21 *Schéma pulzujúceho bublinového surfaktometra (PBS). Komôrka naplnená malým objemom testovanej látky je umiestnená na pulzačnej jednotke. Odsatím časti kvapaliny sa v kapiláre vytvorí bublina s minimálnym polomerom (R min). Rozdiel tlakov na rozhraní bubliny sa zaznamenáva počas adsorpcie surfaktantu a z týchto hodnôt sa vypočíta povrchové napätie. Následne sa bublina cyklicky zväčšuje a zmenšuje medzi R min a R max (približne 20 cyklov za minútu), pričom sa sledujú zmeny povrchového napätia. Detail na obrázku znázorňuje únik surfaktantového filmu do vody v kapiláre počas tvorby bubliny, ktorý môže ovplyvniť meranie (upravené podľa Zuo et al., 2008).*

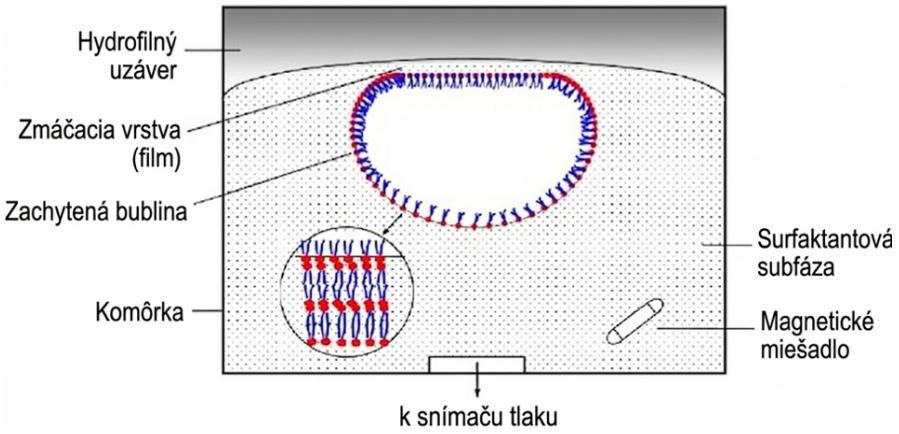
4.1.3 Surfaktometer so zachytenou bublinou

Surfaktometer so zachytenou bublinou (Captive Bubble Surfactometer, CBS) umožňuje štúdium biofyzikálnych vlastností surfaktantového filmu na stabilizovanej vzduchovej bubline v kvapalnom prostredí (obr. 22). V tomto systéme je vzduchová bublina zachytená pod hydrofilným povrchom komôrky naplnenej kvapalinou obsahujúcou surfaktant. Zmenou

tlaku v komôrke sa mení objem a plocha povrchu bubliny, čím možno kontrolovane navodiť kompresiu a expanziu surfaktantového filmu.

Metóda umožňuje sledovať adsorpciu surfaktantu na rozhranie vzduch – tekutina, dynamické zmeny povrchového napätia počas cyklických zmien plochy a stabilitu filmu pri rôznom stupni kompresie. Povrchové napätie sa určuje z geometrie bubliny a tlakových pomerov v systéme na základe Laplaceovho princípu. Významnou výhodou CBS je minimalizácia strát surfaktantového materiálu z rozhrania. Surfaktantový film zostáva počas experimentu zachovaný na povrchu bubliny a nedochádza k jeho výraznému úniku na pevné okraje systému, ako sa môže diať pri niektorých iných metódach. To umožňuje analyzovať správanie filmu pri veľmi vysokej kompresii a dosahovať veľmi nízke hodnoty povrchového napätia, ktoré sú typické pre funkčný pľúcny surfaktant.

CBS patrí medzi najcitlivejšie metódy na hodnotenie dynamických vlastností pľúcneho surfaktantu. Využíva sa na charakterizáciu prírodných a syntetických surfaktantových preparátov, štúdium ich odolnosti voči inaktivácii a analýzu vplyvu jednotlivých lipidových alebo proteínových zložiek na funkciu surfaktantového filmu. Limitáciou zostáva, že ide o zjednodušený model alveolárneho rozhrania, ktorý nereprodukuje úplne geometriu, bunkové prostredie ani mechanické podmienky pľúc *in vivo*.



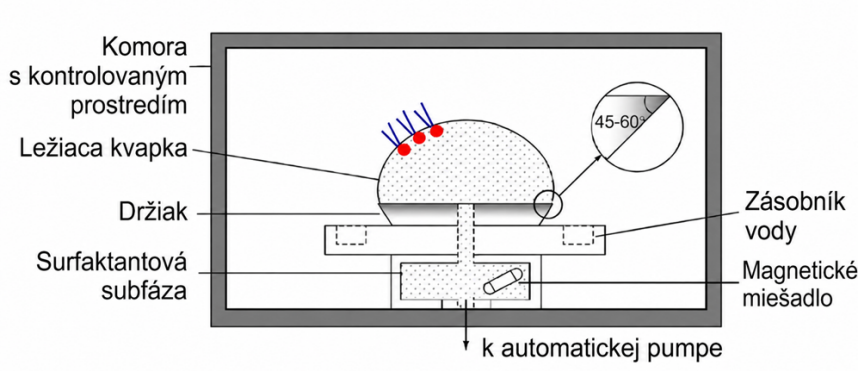
Obrázok 22 *Schéma surfaktometra so zachytenou bublinou. Zachytená vzduchová bublina stúpa k hydrofilnému stropu komôrky, od ktorého je oddelená tenkou zmáčacou vrstvou tekutiny. Táto vrstva zabraňuje úniku surfaktantového filmu, ktorý sa pri nízkych hodnotách povrchového napätia môže objavovať pri iných typoch surfaktometrov. Vložený detail znázorňuje viacvrstvovú štruktúru adsorbovaného pľúcneho surfaktantu na rozhraní vzduch – tekutina na povrchu bubliny. Povrchové napätie sa určuje analýzou tvaru bubliny a plocha rozhrania sa mení úpravou hydraulického tlaku v komôrke (upravené podľa Zuo et al., 2008).*

4.1.4 Metóda ohraničenej ležiacej kvapky

Model ohraničenej ležiacej kvapky (Constrained sessile drop, CSD) je moderná tenziometrická metóda používaná na štúdium biofyzikálnych vlastností surfaktantových filmov. V tomto experimentálnom usporiadaní sa malá kvapka surfaktantu umiestni na pevný podklad s ostrou hranou, ktorá bráni jej rozliatiu. Povrch kvapky je vystavený vzduchu a surfaktantové molekuly sa postupne adsorbujú na rozhraní vzduch – tekutina (obr. 23).

Povrchové napätie sa určuje na základe analýzy tvaru kvapky pomocou matematického modelu vychádzajúceho z Laplaceovej rovnice. Zmeny objemu kvapky umožňujú kontrolovane meniť jej povrchovú plochu a sledovať správanie surfaktantového filmu počas kompresie a expanzie. Výhodou tejto metódy je stabilita surfaktantového filmu počas experimentu, keďže ostrá hrana podkladu zabraňuje úniku materiálu z povrchu kvapky. Vďaka tomu je možné presnejšie analyzovať dynamiku adsorpcie surfaktantu, dosahovanie nízkych hodnôt povrchového napätia a stabilitu filmu pri opakovaných zmenách povrchovej plochy.

CSD sa preto využíva najmä pri detailnom biofyzikálnom hodnotení surfaktantových preparátov a pri štúdiu mechanizmov organizácie surfaktantového filmu na rozhraní vzduch – tekutina. Táto metóda dopĺňa informácie získané pomocou iných surfaktometrov a umožňuje presnejšie charakterizovať funkčné vlastnosti surfaktantov.



Obrázok 23 *Schéma metódy ohraničenej ležiacej kvapky (Constrained sessile drop, CSD). Kvapka surfaktantu je vytvorená na podstavci so špeciálnou ostrou hranou, ktorá bráni jej rozlievaniu aj pri nízkom povrchovom napätí a tým zabraňuje úniku surfaktantového filmu. Kvapka je spojená so zásobníkom surfaktantového roztoku. Tvorba a cyklické zmeny objemu kvapky sa riadia pomocou počítačom ovládanej striekačky. Povrchové napätie sa určuje analýzou tvaru kvapky. Celé zariadenie je umiestnené v komore s kontrolovanými podmienkami prostredia (upravené podľa Zuo et al., 2008).*

4.1.5 Ďalšie tenziometrické metódy

Okrem vyššie uvedených experimentálnych systémov existuje viacero ďalších metód používaných na štúdium vlastností surfaktantových filmov. Ide napríklad o meranie

povrchového napätia pomocou visiacej kvapky (pendant drop tensiometry), pri ktorom sa povrchové napätie určuje z geometrie kvapky visiacej na kapiláre. Táto metóda sa využíva najmä na analýzu adsorpcie surfaktantu na rozhraní a na štúdium dynamiky povrchového filmu. Ďalším prístupom je oscilujúca kvapka (oscillating drop), ktorá umožňuje sledovať zmeny povrchového napätia pri periodických deformáciách kvapky. Okrem hodnoty povrchového napätia je možné analyzovať aj viskoelastické vlastnosti povrchového filmu, ktoré odrážajú mechanické správanie vrstvy surfaktantu.

Pri štúdiu surfaktantu v malých dýchacích cestách sa využíva aj kapilárny surfaktometer (capillary surfactometer). Tento experimentálny systém simuluje úzky lúmen bronchiolov a umožňuje hodnotiť schopnosť surfaktantu udržiavať priechodnosť úzkych dýchacích ciest. Tieto doplnkové experimentálne prístupy rozširujú možnosti biofyzikálnej analýzy surfaktantu a poskytujú ďalšie informácie o vlastnostiach surfaktantového filmu.

4.2 Mikroskopické metódy štúdia surfaktantu

Biofyzikálne merania poskytujú informácie o funkčných vlastnostiach surfaktantového filmu, najmä o jeho schopnosti znižovať povrchové napätie. Na pochopenie mechanizmov fungovania surfaktantu je však dôležité poznať aj organizáciu jeho štruktúry. Mikroskopické metódy umožňujú analyzovať usporiadanie lipidov a proteínov, vznik lipidových domén a reorganizáciu surfaktantového filmu počas kompresie.

Často sa používajú v kombinácii s experimentami v Langmuirovej vaničke, kde je možné meniť povrchovú plochu surfaktantového filmu a súčasne sledovať zmeny jeho štruktúry. Poskytujú tak dôležité doplňujúce informácie k biofyzikálnym meraniam povrchového napätia.

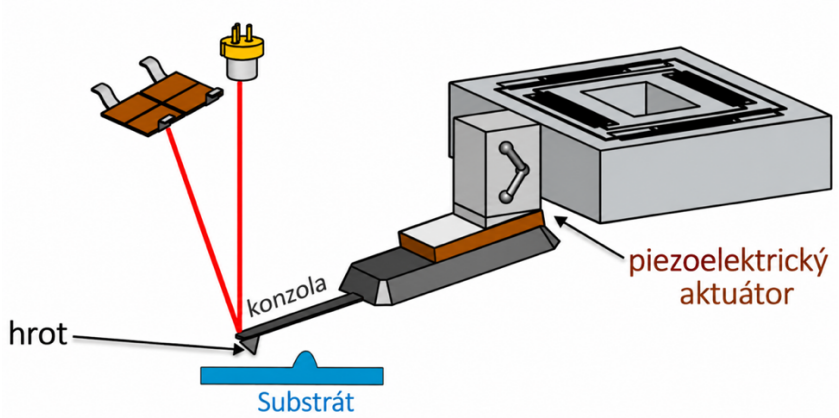
4.2.1 Atómová silová mikroskopia

Atómová silová mikroskopia (Atomic Force Microscopy, AFM) je skenovacia mikroskopická technika umožňujúca zobrazovanie povrchovej topografie s nanometrovým až subnanometrovým vertikálnym rozlíšením. Meranie je založené na detekcii interakčných síl medzi ostrým hrotom umiestneným na pružnej konzole (cantilever) a povrchom analyzovanej vzorky. Pôsobením týchto síl dochádza k vychýleniu konzoly, ktoré sa najčastejšie zaznamenáva optickým systémom využívajúcim laserový lúč odrazený od zadnej strany konzoly na polohovo citlivý fotodetektor. Zmeny vychýlenia pri skenovaní povrchu sa následne prevádzajú na topografický obraz vzorky (obr. 24).

AFM môže pracovať v niekoľkých režimoch. V kontaktnom režime zostáva hrot počas skenovania v nepretržitom kontakte s povrchom, zatiaľ čo v dynamických režimoch konzola osciluje v blízkosti povrchu a interakcie so vzorkou sa vyhodnocujú zo zmien amplitúdy, frekvencie alebo fázy oscilácií. Dynamické režimy znižujú laterálne mechanické namáhanie vzorky a sú preto výhodné pri zobrazovaní mäkkých biologických materiálov.

Pri štúdiu pľúcneho surfaktantu sa AFM využíva najmä na analýzu morfológie a nanoskopickej organizácie surfaktantových filmov a agregátov po ich prenose alebo adsorpcii na pevný substrát. Umožňuje identifikovať laterálne lipidové domény, rozdiely vo výške jednotlivých oblastí filmu, viacvrstvové štruktúry vznikajúce pri kompresii a zmeny organizácie lipidovo-proteínových systémov. V kombinácii s Langmuirovou vaničkou možno napríklad analyzovať štruktúru filmu pri definovanom povrchovom tlaku po jeho prenose na pevný substrát.

Výhodou AFM je vysoké priestorové rozlíšenie a možnosť získavať trojrozmerné informácie o topografii povrchu bez potreby klasického farbenia alebo kontrastných látok. Limitáciou je skutočnosť, že analyzovaný surfaktantový film je spravidla imobilizovaný na pevnom substráte, a preto AFM neposkytuje priamu informáciu o jeho dynamickom správaní počas dychového cyklu.



Obrázok 24 *Schéma atómovej silovej mikroskopie (AFM). Na pružnej konzole (cantilever) je umiestnený ostrý hrot, ktorý interaguje s povrchom analyzovanej vzorky. Interakčné sily medzi hrotom a povrchom spôsobujú vychýlenie alebo zmenu oscilácií konzoly. Tieto zmeny sa detegujú pomocou laserového lúča odrazeného od zadnej strany konzoly na polohovo citlivý fotodetektor. V dynamických režimoch AFM môže byť oscilácia konzoly navodená piezoelektrickým aktuátorom. Skenovaním povrchu a zaznamenávaním odozvy konzoly sa získava topografický obraz vzorky s nanometrovým rozlíšením (upravené podľa: Nanosurf, How does AFM work, https://www.nanosurf.com/en/support/how-does-afm-work).*

4.2.2 Fluorescenčná mikroskopia

Fluorescenčná mikroskopia umožňuje sledovať laterálnu organizáciu surfaktantového filmu pomocou fluorescenčne označených lipidov alebo proteínov. Fluorescenčné sondy sa inkorporujú do lipidovej zmesi a ich distribúcia v monovrstve umožňuje vizualizovať heterogenitu surfaktantového filmu.

Táto technika sa často využíva na analýzu fázovej separácie lipidov a na štúdium tvorby laterálnych domén v monovrstve. Pri kompresii filmu dochádza k reorganizácii molekúl lipidov a k vzniku kondenzovaných lipidových domén, ktoré možno pomocou fluorescenčnej mikroskopie priamo pozorovať. Fluorescenčné zobrazovanie sa často kombinuje s experimentami v Langmuirovej vaničke, čo umožňuje sledovať štrukturálne zmeny surfaktantového filmu pri kontrolovaných zmenách plochy povrchu.

4.2.3 Brewsterova uhlová mikroskopia

Brewsterova uhlová mikroskopia (Brewster angle microscopy, BAM) je optická zobrazovacia technika, ktorá umožňuje vizualizáciu monomolekulových filmov na rozhraní vzduch – tekutina bez použitia fluorescenčných markerov. Metóda využíva Brewsterov uhol dopadu svetla, pri ktorom sa od čistého rozhrania neodráža polarizované svetlo. Prítomnosť molekulového filmu na rozhraní však mení optické vlastnosti povrchu a spôsobuje čiastočný odraz svetla, ktorý je možné detegovať mikroskopickým systémom.

Rovnako aj táto metóda umožňuje sledovať laterálnu organizáciu molekúl v surfaktantovej monovrstve a identifikovať fázové prechody medzi rôznymi stavmi lipidového filmu počas kompresie. BAM sa preto často používa pri štúdiu fázovej separácie lipidov a pri analýze reorganizácie surfaktantového filmu v experimentoch s Langmuirovou vaničkou.

4.3 Biochemická a molekulová analýza surfaktantu

Biofyzikálne metódy opisujú schopnosť surfaktantu znižovať povrchové napätie, neposkytujú však úplnú informáciu o jeho molekulovom zložení. Biochemické a molekulové metódy umožňujú stanoviť zastúpenie jednotlivých lipidov a proteínov, identifikovať zmeny ich štruktúry a posudzovať procesy syntézy, sekrécie, recyklácie a degradácie surfaktantu. Analyzovať možno surfaktant získaný bronchoalveolárnou lavážou, pľúcne tkanivo, izolované alveolárne bunky II. typu, bunkové kultúry, organoidy alebo experimentálne surfaktantové prípravky.

4.3.1 Lipidomika a hmotnostná spektrometria

Základná analýza surfaktantových lipidov zahŕňa stanovenie celkového množstva fosfolipidov a zastúpenia jednotlivých lipidových tried. Medzi sledované zložky patria najmä fosfatidylcholín, fosfatidylglycerol, fosfatidylinozitol, fosfatidyletanolamín, fosfatidylserín, sfingomyelín a cholesterol. Osobitná pozornosť sa venuje dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC), ktorý je známy ako hlavná zložka zodpovedná za dosahovanie veľmi nízkeho povrchového napätia pri kompresii surfaktantového filmu.

Klasické postupy využívajú extrakciu lipidov organickými rozpúšťadlami, chromatografické rozdelenie lipidových tried a kolorimetrické alebo enzymatické stanovenie fosfolipidov a cholesterolu. Tieto metódy sú vhodné na určenie celkového množstva alebo zastúpenia hlavných lipidových tried, ale neposkytujú dostatočné rozlíšenie jednotlivých molekulových foriem lipidov.

Lipidomika predstavuje komplexnú analýzu lipidového zloženia biologickej vzorky. Najčastejšie využíva hmotnostnú spektrometriu spojenú s kvapalinovou chromatografiou (LC–MS/MS) alebo priamym zavádzaním vzorky pomocou elektrosprejovej ionizácie (ESI–MS/MS). Molekuly sa ionizujú, rozdeľujú podľa pomeru hmotnosti k náboju a následne fragmentujú. Vzniknuté fragmenty umožňujú presnejšie určiť lipidovú triedu a zloženie mastných kyselín. Takto možno rozlíšiť nielen fosfatidylcholín od fosfatidylglycerolu, ale aj jednotlivé molekulové formy v rámci rovnakej lipidovej triedy. Dôležité je napríklad rozlíšenie nasýtených a nenasýtených fosfolipidov alebo stanovenie lyzofosfolipidov a oxidovaných lipidov vznikajúcich počas oxidačného stresu a zápalu. Zmeny lipidového profilu môžu poukazovať na poruchu syntézy surfaktantu, prestavby mastných kyselín, transportu lipidov do lamelárnych teliesok alebo na zvýšenú degradáciu surfaktantu.

Novšou možnosťou je zobrazovacia hmotnostná spektrometria, napríklad MALDI-MSI, ktorá spája molekulovú analýzu so zobrazením priestorového rozloženia lipidov v pľúcnom tkanive. Umožňuje sledovať, v ktorých oblastiach pľúc sa jednotlivé fosfolipidy nachádzajú, prípadne ako sa v tkanive distribuuje exogénne podaný alebo izotopovo označený surfaktant. Jej výhodou je zachovanie priestorovej informácie, kvantifikácia a jednoznačné rozlíšenie štruktúrne podobných lipidov však môžu byť náročnejšie. Preto sa zvyčajne kombinuje s klasickou LC–MS/MS analýzou extrahovaných lipidov.

Lipidomika výrazne rozširuje možnosti hodnotenia surfaktantového metabolizmu, sama však neurčuje jeho povrchovú aktivitu. Zistené zmeny lipidového zloženia by preto mali byť porovnané s výsledkami surfaktometrie, mechaniky pľúc a hodnotenia poškodenia alveolokapilárnej membrány.

4.3.2 Analýza surfaktantových proteínov

Analýza surfaktantových proteínov sa zameriava najmä na SP-A, SP-B, SP-C a SP-D, prípadne na ich prekurzory, oligomérne formy a produkty degradácie. Materiálom môže byť tekutina získaná bronchoalveolárnou lavážou, homogenát pľúcneho tkaniva, bunkový lyzát alebo kultivačné médium alveolárnych buniek. Voľba metódy závisí od toho, či je cieľom stanoviť koncentráciu proteínu, jeho molekulovú formu, priestorové rozloženie alebo širší proteínový profil vzorky.

Enzýmová imunoanalýza ELISA umožňuje kvantitatívne stanoviť vybraný proteín pomocou špecifických protilátok. Je vhodná najmä na analýzu väčšieho počtu vzoriek a pri dostatočne validovanej metóde poskytuje citlivé a reprodukovateľné výsledky. Výsledná hodnota však predstavuje množstvo antigénu rozpoznaného použitými protilátkami. Nemusí rozlišovať medzi zrelým proteínom, jeho prekurzorom, fragmentom alebo rôznymi oligomérnymi formami. Porovnateľnosť výsledkov preto závisí od vlastností protilátok, použitého štandardu a od zloženia analyzovanej vzorky.

Imunoblot, označovaný aj ako Western blot, umožňuje posúdiť nielen prítomnosť proteínu, ale aj jeho zdanlivú molekulovú hmotnosť. Proteíny sa najskôr rozdelia elektroforézou, prenesú na membránu a následne detegujú špecifickou protilátkou. Metóda umožňuje odlíšiť zrelé proteíny od niektorých prekurzorov a produktov degradácie. Pri analýze SP-B a SP-C môže poskytnúť aj informáciu o monomérnych, dimérnych alebo vyšších molekulových formách.

Analýza hydrofóbnych SP-B a SP-C je metodicky náročnejšia než analýza hydrofilných SP-A a SP-D. SP-B a SP-C sa silno viažu na lipidy, môžu agregovať a počas extrakcie, elektroforézy alebo prenosu na membránu sa môžu čiastočne strácať. Význam má preto zloženie extrakčného roztoku, typ elektroforetického gélu a membrány, ako aj špecificita protilátok. Pri hodnotení prekurzorov treba poznať epitop rozpoznávaný protilátkou, pretože protilátky namierené proti rozdielnym častiam prekurzorového proteínu nemusia detegovať rovnaké produkty jeho spracovania.

Proteomika založená na hmotnostnej spektrometrii umožňuje súčasne identifikovať a relatívne alebo absolútne kvantifikovať veľké množstvo proteínov. Pri najčastejšie používanej „bottom-up“ proteomike sa proteíny rozštiepia enzýmom, spravidla trypsínom, a vzniknuté peptidy sa analyzujú pomocou LC–MS/MS. Identifikácia proteínov vychádza z hmotnosti a fragmentácie peptidov a ich porovnania s proteínovými databázami. Kvantifikácia môže byť bez značenia alebo môže využívať izotopové a izobarické značky umožňujúce porovnanie viacerých vzoriek. Moderné proteomické postupy dokážu okrem surfaktantových proteínov zachytiť aj proteíny spojené so zápalom, oxidačným stresom, proteolýzou, transportom lipidov, bunkovým

poškodením a poruchou alveolokapilárnej membrány. Aktuálnym trendom je znižovanie potrebného objemu vzorky a zjednodušovanie spracovania tak, aby sa obmedzili straty proteínov a zvýšila reprodukovateľnosť analýzy.

Imunohistochemické a imunofluorescenčné metódy dopĺňajú kvantitatívne analýzy o informáciu o priestorovom rozložení proteínov. Umožňujú lokalizovať surfaktantové proteíny a ich prekurzory v alveolárnych bunkách II. typu, bunkách bronchiolového epitelu alebo v extracelulárnom priestore. Pomocou viacfarebnej imunofluorescencie možno súčasne sledovať surfaktantové proteíny, markery lamelárnych teliesok, bunkovej proliferácie, apoptózy alebo zápalových buniek. Intenzita imunohistochemického signálu však nie je priamym ekvivalentom koncentrácie proteínu. Ovplyvňuje ju fixácia tkaniva, sprístupnenie epitopu, väzbová špecificita protilátky, nastavenie mikroskopu a spôsob obrazovej analýzy. Nevyhnutné sú negatívne a pozitívne kontroly a pri kvantifikácii rovnaké podmienky snímania všetkých porovnávaných vzoriek.

4.4 *In vitro*, *ex vivo* a *in vivo* modely

Experimentálne modely surfaktantu sa líšia mierou biologickej komplexnosti. *In vitro* systémy umožňujú skúmať jednotlivé bunkové a molekulové mechanizmy, *ex vivo* modely zachovávajú časť alebo celý orgán mimo organizmu a *in vivo* modely poskytujú informácie o funkcii surfaktantu v podmienkach celého respiračného systému, resp. celého organizmu. Jednotlivé prístupy sa preto navzájom dopĺňajú.

4.4.1 Bunkové kultúry a alveolárne organoidy

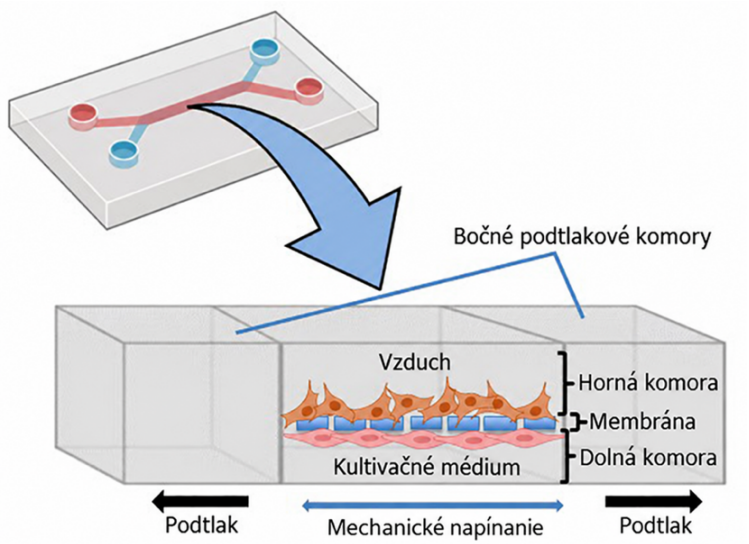
Bunkové kultúry sa využívajú na štúdium syntézy, spracovania a sekrécie surfaktantových lipidov a proteínov. Najväčší význam majú primárne alveolárne bunky II. typu a bunkové línie s vlastnosťami alveolárneho epitelu. V kontrolovaných podmienkach možno sledovať ich odpoveď na mechanické napätie, hypoxiu, zápalové mediátory, oxidačný stres alebo liečivá.

Klasické dvojrozmerné kultúry sú dobre reprodukovateľné, ale alveolárne bunky II. typu v nich môžu postupne strácať svoj pôvodný fenotyp. Alveolárne organoidy predstavujú trojrozmerné kultúry vytvorené z primárnych alebo pluripotentných kmeňových buniek. Lepšie zachovávajú diferenciáciu alveolárneho epitelu a umožňujú študovať tvorbu lamelárnych teliesok, expresiu surfaktantových proteínov, regeneráciu epitelu a geneticky podmienené poruchy surfaktantu. Nemodelujú však úplnú pľúcnu cirkuláciu, ventiláciu ani komplexnú imunitnú odpoveď, a preto nenahrádzajú funkčné hodnotenie v celom orgáne.

4.4.2 Model lung-on-chip

Model „pľúc na čipe“ (lung-on-chip) je mikrofluidný systém, ktorý napodobňuje vybrané vlastnosti alveolokapilárneho rozhrania. Alveolárne epitelové a mikrovaskulárne endotelové bunky sú zvyčajne kultivované na opačných stranách priepustnej membrány. Niektoré systémy umožňujú vytvárať rozhranie vzduch – tekutina, prietok média a cyklické mechanické napínanie podobné dychovým pohybom (obr. 25).

Tieto modely sa používajú na štúdium mechanotransdukcie, permeability alveolokapilárnej membrány, zápalovej odpovede a transportu liečiv. Vo výskume surfaktantu umožňujú sledovať jeho sekréciu, distribúciu a interakciu s alveolárnym epitelom počas mechanického namáhania. Ich limitáciou je zjednodušenie štruktúry pľúc, rozdiely medzi konštrukciami jednotlivých čipov a absencia systémových regulačných mechanizmov. Výsledky preto nemožno priamo považovať za odpoveď celých pľúc alebo organizmu.



Obrázok 25 *Schematické znázornenie mikrofluidného systému „pľúc na čipe“. Prierez modelom zobrazuje hornú komoru vystlanú ľudskými pľúcnymi epitelovými bunkami a dolnú komoru vystlanú pľúcnymi endotelovými bunkami, ktoré sú oddelené tenkou poréznou membránou. Bočné vákuové kanáliky rozťahujú membránu, čím napodobňujú mechanické sily pri dýchaní v podmienkach in vivo (upravené podľa Cidem et al. 2020).*

4.4.3 Izolované a *ex vivo* perfundované pľúca

V modeli izolovaných perfundovaných pľúc sa orgán mimo tela ventiluje a súčasne preplachuje perfúznym roztokom. Na rozdiel od bunkových kultúr zostáva zachovaná priestorová organizácia pľúc, alveolokapilárna membrána, dýchacie cesty a pľúcna cirkulácia. Kontrolovať možno ventilačné tlaky, objemy, zloženie perfuzátu a podmienky poškodenia.

Model umožňuje sledovať pľúcnu mechaniku, výmenu plynov, vznik edému, permeabilitu alveolokapilárnej membrány, distribúciu exogénneho surfaktantu a jeho vplyv na funkciu celého orgánu. Výhodou je obmedzenie vplyvu ostatných orgánov a možnosť presne kontrolovať experimentálne podmienky. Nevýhodou je časovo obmedzená životaschopnosť pľúc a neprítomnosť systémovej, nervovej a hormonálnej regulácie. Pľúca perfundované *ex vivo* preto predstavujú prechod medzi zjednodušenými *in vitro* systémami a komplexnými pokusmi *in vivo*.

4.4.4 *In vivo* modely

Zvieracie modely umožňujú hodnotiť surfaktant v podmienkach celého respiračného systému vrátane jeho distribúcie, vplyvu na mechaniku pľúc, výmenu plynov, zápalovú odpoveď a alveolokapilárnu membránu. Používajú sa najmä na štúdium primárneho deficitu surfaktantu pri nezrelosti pľúc a jeho sekundárnej dysfunkcie pri akútnom poškodení pľúc.

Žiadny zvierací model nereprodukuje všetky znaky ľudského ochorenia. Jeho voľba preto závisí od skúmaného mechanizmu, druhu testovanej intervencie a požadovaných výsledkov. Pri interpretácii treba zohľadniť rozdiely medzi druhmi, spôsob indukcie poškodenia, jeho závažnosť a trvanie.

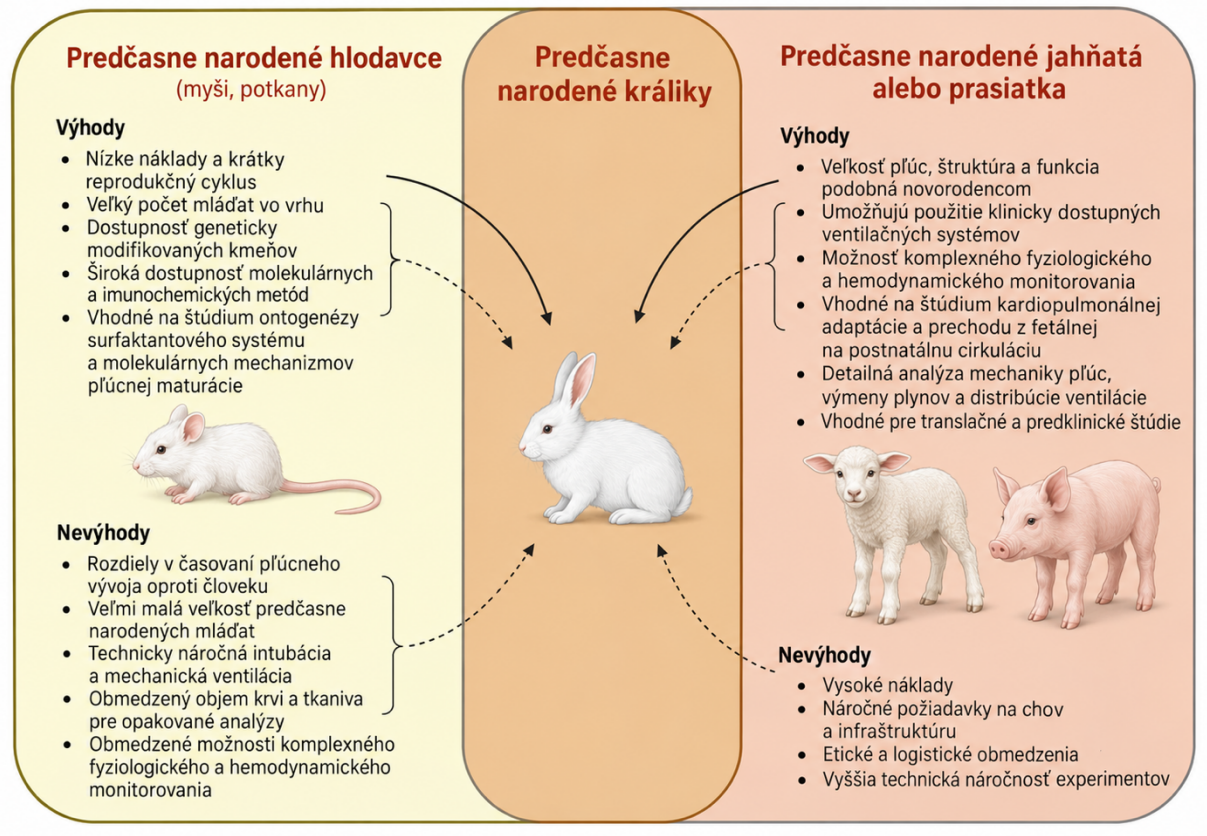
4.4.4.1 Modely primárneho deficitu surfaktantu

Pri experimentálnych modeloch primárneho nedostatku surfaktantu ide z hľadiska ontogenézy najmä o štádium vývoja pľúc, charakterizované nezrelosťou pľúcneho tkaniva a obmedzenou sekréciou surfaktantu. Nedostatočná tvorba surfaktantu vedie k atelektázam, zníženiu funkčnej reziduálnej kapacity a poruche výmeny plynov, čím model reprodukuje hlavné znaky RDS. Takto nastavený model poskytuje relevantné prostredie na analýzu nedostatku surfaktantu a testovanie terapeutických intervencií zameraných na stabilizáciu nezrelého pľúcneho parenchýmu.

Najčastejšie používaným experimentálnym modelom sú predčasne narodené králiky, ktorých pľúcny vývoj je dobre charakterizovaný a v určitých štádiách gravidity vykazuje výrazný deficit surfaktantu. Králičie plody porodené približne v 27.–28. dni gestácie (pri celkovej dĺžke gravidity okolo 32 dní) majú ešte nezrelý surfaktantový systém a sú prítomné fyziologické a morfologické znaky charakteristické pre RDS. Tento model sa používa na experimentálne hodnotenie účinnosti exogénnych surfaktantových preparátov a na štúdium mechanizmov distribúcie surfaktantu v pľúcach. Model predčasne narodených králikov predstavuje určitý

kompromis medzi biologickou relevanciou vzhľadom na podobnosť s ľudskými tkanivami a dostupnosťou experimentálnej metodiky pre nižšie náklady a nižšiu technickú náročnosť v porovnaní s väčšími modelmi (obr. 26).

Ako experimentálny model slúžia aj predčasne narodené jahňatá alebo prasatá, ktorých pľúca sa svojou stavbou a funkciou výrazne podobajú pľúcam novorodencov. Experimenty sa u jahniat najčastejšie realizujú približne v 125.–130. dni gestácie (pri celkovej dĺžke gravidity 145–150 dní) a u prasiat približne v 102.–105. dni gestácie (pri celkovej dĺžke gravidity približne 114 dní). Veľkosť pľúc, architektúra alveolárneho parenchýmu, vývoj pľúcnej cirkulácie a mechanické vlastnosti respiračného systému umožňujú detailnejšie študovať fyziológiu a patofyziológiu perinatálneho obdobia. V porovnaní s malými zvieracími modelmi poskytujú realistickejšie podmienky pre analýzu ventilačných stratégií, distribúcie ventilácie, výmeny plynov a interakcie medzi pľúcnou ventiláciou a perfúziou. Model predčasne narodených jahniat sa používa na štúdium mechanizmov kardiopulmonálnej adaptácie, prechodu z fetálneho typu cirkulácie na postnatálny. Využitie invazívnych techník v tomto modeli umožňuje priamo korelovať zmeny v pľúcnej cirkulácii s externými faktormi, akými sú hypoxia, mechanická ventilácia a farmakoterapia. Vďaka invazívnemu hemodynamickému monitoringu možno kvantifikovať kľúčové ukazovatele, ako tlak v pľúcnej artérii, prietok krvi pľúcami a systémový krvný tlak. Model predčasne narodených prasiat poskytuje podobné experimentálne možnosti. Vďaka relatívne veľkej hmotnosti zvieraťa umožňuje využitie klinicky používaných ventilačných systémov, katetrizačných techník a zobrazovacích metód.



Obrázok 26 *Porovnanie vybraných zvieracích modelov používaných pri experimentálnom štúdiu primárneho deficitu pľúcneho surfaktantu. Schéma sumarizuje hlavné výhody a nevýhody modelových zvierat. Predčasne narodené králiky predstavujú praktický kompromis medzi biologickou relevanciou, experimentálnou dostupnosťou a technickou náročnosťou, zatiaľ čo veľké zvieracie modely poskytujú širšie možnosti komplexného monitorovania a translačne orientovaných štúdií (vlastné spracovanie Mikolka P., 2026)*

Zhrnutie patofyziológie pri modeloch primárneho deficitu surfaktantu

- nedostatočná produkcia surfaktantu pneumocytmi II. typu v dôsledku nezrelosti pľúc
- zvýšené povrchové napätie na rozhraní vzduch – tekutina v alveolách
- znížená poddajnosť pľúc a zvýšená mechanická náročnosť ventilácie
- kolaps alveol počas exspíria a ich opakované otváranie počas inspíria
- mechanické poškodenie alveolárneho epitelu v dôsledku cyklického kolabovania a reexpanzie alveol
- nerovnomerná distribúcia ventilácie a vznik ventilačno-perfúzneho nepomeru
- hypoxémia a zhoršenie výmeny plynov v dôsledku pľúcnych skratov
- zvýšená dychová práca, ktorá môže viesť k progresii respiračného zlyhávania typického pre neonatálny RDS

4.4.4.2 Modely sekundárnej dysfunkcie surfaktantu

Pri akútnom syndróme respiračnej tiesne (ARDS) je dominujúcim patofyziologickým mechanizmom často sekundárna inaktivácia surfaktantu, kedy je jeho funkcia inhibovaná prítomnosťou exogénnych a endogénnych faktorov v alveolárnom priestore.

Experimentálne modely sekundárnej dysfunkcie surfaktantu napodobňujú pôsobenie plazmatických proteínov, zápalových mediátorov, produktov bunkového poškodenia a oxidačného stresu na surfaktantový systém. Ich molekulové mechanizmy sú podrobnejšie opísané v kapitole 2.7.3. V tejto kapitole sa preto pozornosť sústreďuje na spôsob navodenia poškodenia, dominantnú zložku jednotlivých modelov a ich využitie pri hodnotení surfaktantovej terapie.

Model nedostatku surfaktantu vytvoreného lavážou

Tento model patrí k najčastejšie používaným experimentálnym prístupom. Nedostatok surfaktantu sa indukuje opakovanou bronchoalveolárnou lavážou (BAL) fyziologickým roztokom zohriatym na telesnú teplotu. Proces vedie k mechanickému odstráneniu alveolárneho surfaktantu, čo indukuje:

- výrazný pokles pľúcnej poddajnosti,
- zvýšenie pľúcnych skratov,
- rozvoj ťažkej hypoxémie.

Model sa realizuje najmä na králikoch, potkanoch alebo prasatách a predstavuje vysoko reprodukovateľný systém na testovanie rôznych ventilačných stratégií a substitučnej terapie.

Model aspiračného poškodenia pľúc

Poškodenie pľúc aspiráciou sa vyvoláva intratracheálnou instiláciou kyseliny chlorovodíkovej (simulácia aspirácie žalúdočného obsahu) alebo samotného žalúdočného obsahu. Kyselina indukuje chemickú pneumonitídu, ktorá narúša alveolárno-kapilárnu membránu. Kľúčovým patofyziologickým mechanizmom je zvýšená permeabilita, ktorá vedie k prieniku edémovej tekutiny bohatej na plazmatické proteíny do alveol. Tieto proteíny súťažia s molekulami surfaktantu o miesto na rozhraní vzduch – tekutina. Procesom kompetitívnej inhibície proteíny prednostne obsadzujú povrch alveol alebo molekuly surfaktantu z neho aktívne vytesňujú, čím znemožňujú vytvorenie koherentnej fosfolipidovej monovrstvy. Výsledkom je progresívna alveolárna nestabilita, vznik difúznych atelektáz a následný kolaps pľúcneho parenchýmu, čo klinicky koreluje s rozvojom ťažkého ARDS.

Samostatný aspiračný model v novorodeneckom období predstavuje model syndrómu aspirácie mekónia (MAS), pri ktorom sa mekónium podáva do dýchacích ciest. Tento model reprodukuje sekundárnu dysfunkciu surfaktantu v kombinácii s mechanickou obštrukciou dýchacích ciest, chemickým a zápalovým poškodením a pľúcnou vazokonstrikciou.

Ventilátorom indukované poškodenie pľúc

Model VILI (ventilator-induced lung injury) sa používa na experimentálne navodenie poškodenia pľúc v dôsledku nadmerného mechanického zaťaženia počas umelej pľúcnej ventilácie. Najčastejšie sa využívajú vysoké dychové objemy, vysoké transpulmonálne tlaky, nízky alebo nulový PEEP, prípadne kombinácia týchto faktorov. Výsledkom je poškodenie alveolárneho epitelu a endotelu, zvýšenie permeability alveolokapilárnej membrány, zápalová odpoveď a sekundárna dysfunkcia surfaktantu.

Patofyziologické mechanizmy VILI, vrátane volutraumy, barotraumy, atelektotraumy a biotraumy, sú podrobnejšie uvedené v kapitole 2.7.5. V experimentálnom výskume sa model VILI využíva najmä na štúdium vzťahu medzi intenzitou mechanickej ventilácie, poškodením pľúcneho parenchýmu a poruchou surfaktantového systému, ako aj na hodnotenie protektívnych ventilačných stratégií a terapeutických intervencií.

Modely indukovaného pľúcneho zápalu

Špecifickú kategóriu predstavujú modely zamerané na štúdium úlohy surfaktantu pri infekcii. Najčastejšie sa využíva lipopolysacharid (LPS), endotoxín z bunkovej steny gramnegatívnych baktérií, ktorý sa aplikuje intratracheálne alebo intravenózne. LPS aktivuje vrodenú imunitnú odpoveď, alveolárne makrofágy a nábor neutrofilov do pľúc. Následná produkcia cytokínov, proteáz a reaktívnych foriem kyslíka môže poškodzovať alveolokapilárnu membránu a sekundárne meniť tvorbu, zloženie a funkciu surfaktantu.

Pri modeloch priamej bakteriálnej infekcie (napr. *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* alebo *Streptococcus* sk. B) dochádza okrem vyššie uvedených mechanizmov aj k priamej enzymatickej degradácii surfaktantu bakteriálnymi fosfolipázami. Tieto modely sú dôležitým experimentálnym nástrojom pri testovaní modifikovaných exogénnych surfaktantov, napríklad preparátov obohatených o antimikrobiálne peptidy alebo antioxidanty, ktoré sú navrhnuté tak, aby si zachovali funkčnú aktivitu aj v prostredí silnej inhibície surfaktantu zápalom alebo samotnými infekčnými agens.

Model vyvolaný kyselinou olejovou

Intravenózne podanie kyseliny olejovej vyvoláva predovšetkým poškodenie endotelu pľúcnych kapilár, zvýšenie vaskulárnej permeability a vznik edému bohatého na plazmatické proteíny. Sekundárne sa môže poškodiť aj alveolárny epitel a surfaktantový systém. Ide o zavedený model poškodenia pľúc, ktorý zvýrazňuje úlohu endotelu, zvýšenej vaskulárnej permeability a edému bohatého na plazmatické proteíny. Reprodukuje však iba niektoré zložky komplexnej patofyziológie ARDS.

Kombinované modely

Kombinované „two-hit" modely využívajú dva po sebe nasledujúce inzulty, napríklad aspiráciu kyseliny alebo podanie LPS spojené s následným ventilátorom indukovaným poškodením pľúc. Prvý inzult poškodí pľúcne tkanivo a zvýši jeho vulnerabilitu voči následnému zásahu, zatiaľ čo druhý inzult vedie k ďalšiemu zosilneniu poškodenia. Tieto modely lepšie reprodukujú multifaktoriálny vznik ARDS a výraznú sekundárnu dysfunkciu surfaktantu než modely založené na jedinom inzulte. Ich nevýhodou je vyššia variabilita a náročnejšie rozlíšenie účinku jednotlivých mechanizmov

4.4.4.3 Porovnanie experimentálnych modelov ARDS

Voľba konkrétneho experimentálneho modelu ARDS závisí od výskumnej otázky, pretože jednotlivé modely reprodukujú rozdielne mechanizmy a fázy komplexnej patofyziológie akútneho poškodenia pľúc. Žiadny model nedokáže súčasne napodobniť všetky charakteristiky klinického ARDS, vrátane poškodenia alveolokapilárnej membrány, zápalovej odpovede, edému, porúch mechaniky pľúc, heterogenity ventilácie, porúch perfúzie a sekundárnej dysfunkcie surfaktantu.

Jednotlivé modely sa preto líšia nielen mechanizmom indukcie poškodenia, ale aj rýchlosťou rozvoja ochorenia, závažnosťou hypoxémie, rozsahom zápalu, reverzibilitou zmien a mierou podobnosti s klinickým ARDS. Lavážny model poskytuje vysokú reprodukovateľnosť a výraznú depléciu surfaktantu, ale len obmedzene reprodukuje zápalové a vaskulárne zložky ARDS. Aspiračné modely lepšie napodobňujú priame poškodenie alveolárneho epitelu a zvýšenú permeabilitu, zatiaľ čo VILI zdôrazňuje mechanické poškodenie pľúc pri nadmernej ventilácii. Modely vyvolané LPS alebo bakteriálnou infekciou sú vhodné najmä na štúdium zápalovej odpovede a interakcie medzi infekciou a surfaktantovým systémom. Model s

kyselinou olejovou naopak výraznejšie postihuje pľúcny endotel a reprodukuje edémové poškodenie.

Z translačného hľadiska je preto dôležité voliť model podľa dominantného mechanizmu, ktorý má byť študovaný, a podľa typu terapeutickej intervencie. Pri hodnotení exogénneho surfaktantu sú osobitne vhodné modely s výraznou depléciou alebo inaktiváciou surfaktantu, zatiaľ čo pri štúdiu protizápalových alebo vaskulárne orientovaných intervencií môžu byť vhodnejšie modely založené na aspirácii, infekcii alebo endoteliálnom poškodení. Prehľad základných charakteristík jednotlivých modelov je uvedený v tab. 3.

Tabuľka 3 Prehľad modelov sekundárnej dysfunkcie surfaktantu (upravené podľa Matute-Bello et al., 2008 a odporúčaní American Thoracic Society pre experimentálne modely akútneho poškodenia pľúc 2011, 2022).

Experimentálny model	Hlavný mechanizmus	Dominantný typ poškodenia	Reverzibilita*	Klinická paralela
Lavážny (BAL)	Mechanické odstránenie alveolárneho surfaktantu	Deplécia surfaktantu, atelektázy, porucha mechaniky a výmeny plynov	Vysoká	ARDS s výraznou dysfunkciou/depléciou surfaktantu; funkčne pripomína niektoré aspekty neonatálneho RDS
Aspiračný (HCl)	Priame chemické poškodenie alveolárneho epitelu	Epitelová nekróza, zvýšená permeabilita, alveolárny a intersticiálny edém, hemorágia a zápal	Stredná až nízka	Aspirácia kyslého žalúdočného obsahu, aspiračná pneumonitída
VILI	Nadmerný mechanický stress a strain počas ventilácie	Poškodenie alveolokapilárnej membrány, zvýšená permeabilita, edém a zápalová odpoveď	Stredná až nízka	Ventilátorom indukované poškodenie pľúc
LPS / bakteriálna infekcia	Aktivácia vrodenej imunity a zápalovej odpovede	Neutrofilný zápal, poškodenie alveolokapilárnej membrány a sekundárna dysfunkcia surfaktantu	Spravidla stredná až vysoká pri LPS; variabilná pri infekcii	Sepsa alebo bakteriálna pneumónia podľa spôsobu podania
Kyselina olejová	Primárne poškodenie pľúcneho endotelu	Zvýšená vaskulárna permeabilita, proteinózny edém, alveolárna hemorágia, trombóza a zápal	Stredná až vysoká	Poškodenie pľúc pri tukovej embólii

*Reverzibilita výrazne závisí od dávky, druhu zvieraťa, dĺžky experimentu a pridružených inzultov; nejde o absolútnu vlastnosť modelu.

Zhrnutie patofyziológie pri modeloch sekundárnej dysfunkcie surfaktantu

V závislosti od mechanizmu, intenzity a trvania poškodenia môžu jednotlivé modely vykazovať niektoré alebo viaceré z nasledujúcich znakov:

- poškodenie alveolokapilárnej membrány, ktoré vedie k zvýšenej permeabilite pľúcnych kapilár
- prenikanie plazmatických proteínov do alveolárneho priestoru, ktoré interferujú s molekulami surfaktantu
- kompetitívna inhibícia surfaktantového filmu plazmatickými proteínmi
- zmeny v zložení surfaktantu, vrátane degradácie fosfolipidov a proteínov
- narušenie organizácie surfaktantového filmu, ktoré vedie k zvýšeniu povrchového napätia
- znížená stabilita alveol a vznik difúznych atelektáz
- zápal v pľúcnom parenchýme, spojený s infiltráciou neutrofilov a produkciou cytokínov
- alveolárny edém, ktorý ďalej zhoršuje funkciu surfaktantu
- porucha ventilácie a perfúzie a hypoxémia typická pre akútne poškodenie pľúc

4.5 Funkčné hodnotenie surfaktantu v experimentálnych modeloch

V experimentálnych štúdiách na zvieratách sa funkcia surfaktantu často hodnotí nepriamo prostredníctvom zmien mechanických vlastností pľúc, efektivity výmeny plynov a morfológie pľúcneho parenchýmu. Keďže surfaktant významne ovplyvňuje stabilitu alveol a mechaniku pľúc, jeho deficit alebo dysfunkcia sa prejavujú charakteristickými zmenami viacerých fyziologických parametrov.

Hodnotenie pľúcnej mechaniky

Jedným z najcitlivejších ukazovateľov poruchy surfaktantu je zníženie pľúcnej poddajnosti a zvýšenie elastancie. Hodnotí sa dynamická alebo statická poddajnosť, tlakovo-objemové krivky a podľa charakteru modelu aj odpor dýchacích ciest. Tieto parametre odrážajú mechanickú náročnosť rozvinutia pľúc a stabilitu alveol, nie sú však špecifické iba pre surfaktant. Ovplyvňuje ich aj edém, bronchokonstrikcia, nastavenie ventilácie a stav hrudnej steny.

Hodnotenie výmeny plynov

Porucha surfaktantu vedie k atelektázam, heterogenite ventilácie a vzniku pľúcnych skratov. Sledujú sa preto najmä PaO_2, $PaCO_2$, pomer PaO_2/FiO_2 a pri ventilovaných modeloch aj

oxygenačný index. Zlepšenie oxygenácie po podaní surfaktantu môže poukazovať na obnovenie alveolárnej stability a ventilácie, ale závisí aj od perfúzie, ventilačnej stratégie a distribúcie podaného preparátu.

Alveolokapilárna permeabilita a pľúcny edém

Integrita alveolokapilárnej membrány sa hodnotí podľa prestupu plazmatických proteínov alebo značených molekúl do alveolárneho priestoru. Používa sa napríklad stanovenie celkových proteínov a albumínu v BAL. Množstvo pľúcneho edému možno určiť pomerom vlhkej a suchej hmotnosti pľúc. Tieto ukazovatele opisujú najmä poškodenie membrány a hromadenie tekutiny, ktoré môžu následne inhibovať surfaktant.

Histologické a morfometrické hodnotenie

Štrukturálne zmeny pľúcneho tkaniva sa analyzujú pomocou histologických a morfometrických metód. Pri nedostatku surfaktantu alebo jeho inaktivácii sa typicky pozorujú difúzne atelektázy, nerovnomerné prevzdušnenie alveol, zhrubnutie alveolárnych sept a prítomnosť alveolárneho edému, hemorágie, hyalínnych membrán alebo zápalových buniek. Morfometria umožňuje tieto parametre kvantitatívne hodnotiť. Spoľahlivé porovnanie vyžaduje rovnaký spôsob fixácie a rozvinutia pľúc a zaslepené hodnotenie preparátov.

Analýza surfaktantu po experimente

Okrem fyziologických a morfologických ukazovateľov sa stav surfaktantového systému hodnotí analýzou bronchoalveolárnej lavážnej tekutiny (BAL). Tá umožňuje nepriamo posúdiť množstvo, zloženie a zastúpenie jednotlivých frakcií surfaktantu v lavážovanej oblasti pľúc.

Najčastejšie sa stanovuje celkový obsah fosfolipidov a zastúpenie hlavných lipidov vrátane DPPC. Podrobnejšiu charakterizáciu jednotlivých lipidových tried a molekulových foriem umožňuje lipidomika a hmotnostná spektrometria, ktoré sú opísané v kapitole 4.3.1. Zo surfaktantových proteínov sa sledujú najmä SP-B a SP-C, prípadne SP-A a SP-D. Na ich stanovenie sa používajú ELISA, Western blot a ďalšie metódy uvedené v kapitole 4.3.2.

Diferenciálnou centrifugáciou možno surfaktant rozdeliť na povrchovo aktívnejšie veľké agregáty (LA) a menej aktívne malé agregáty (SA). Zníženie pomeru LA/SA môže poukazovať na prestavbu alebo inaktiváciu surfaktantu. Zastúpenie týchto frakcií však závisí od spôsobu spracovania vzorky, preto sa má interpretovať spolu s priamym meraním povrchovej aktivity opísaným v kapitole 4.1.

Významným obmedzením BAL je variabilné zriedenie epitelovej výstelkovej tekutiny lavážnym roztokom. Namerané koncentrácie preto nemožno automaticky považovať za skutočné koncentrácie v alveolárnom priestore. Pri porovnávaní skupín je potrebné používať rovnaký lavážny postup, uvádzať aplikovaný a získaný objem a zvoliť vhodný spôsob normalizácie výsledkov.

Odporúčaná a použitá literatúra ku kapitole 4

Barkauskas CE et al. Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung. J Clin Invest. 2013;123(7):3025–3036.

Cañadas O et al. Lipid–protein and protein–protein interactions in the pulmonary surfactant system and their role in lung homeostasis. Int J Mol Sci. 2020;21(10):3708.

Cidem A et al. Modifying and Integrating in vitro and ex vivo Respiratory Models for Inhalation Drug Screening. Front Bioeng Biotechnol. 2020;8:581995.

Enhörning G. Pulsating bubble technique for evaluating pulmonary surfactant. J Appl Physiol (1985). 1977;43(2):198–203.

Freitag N et al. Standardized sample preparation of paediatric bronchoalveolar lavage fluid for mass spectrometry based proteomic analysis. Mol Cell Pediatr. 2025;12(1):21.

Goerke J. Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. Biochim Biophys Acta. 1998;1408(2–3):79–89.

Griese M et al. Surfactant lipidomics in healthy children and childhood interstitial lung disease. PLoS One. 2015;10(2):e0117985.

Hall SB, Zuo YY. The biophysical function of pulmonary surfactant. Biophys J. 2024;123(12):1519–1530.

Huh D et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. Science. 2010;328(5986):1662–1668.

Johansson J, Curstedt T. Synthetic surfactants with SP-B and SP-C analogues to enable worldwide treatment of neonatal respiratory distress syndrome and other lung diseases. J Intern Med. 2019;285(2):165–186.

Kulkarni HS et al. Update on the features and measurements of experimental acute lung injury in animals: an official American Thoracic Society workshop report. Am J Respir Cell Mol Biol. 2022;66(2):e1–e14.

López-Rodríguez E, Pérez-Gil J. Structure–function relationships in pulmonary surfactant membranes: from biophysics to therapy. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2014;1838(6):1568–1585.

Matute-Bello G et al. Animal models of acute lung injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2008;295(3):L379–L399.

Matute-Bello G et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011;44(5):725–738.

Notter RH. Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications. Boca Raton: CRC Press; 2000.

Pérez-Gil J. Structure of pulmonary surfactant membranes and films: the role of proteins and lipid–protein interactions. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(7–8):1676–1695.

Pérez-Gil J. A recipe for a good clinical pulmonary surfactant. Biomed J. 2022;45(4):615–628.

Pérez-Gil J, Weaver TE. Pulmonary surfactant pathophysiology: current models and open questions. Physiology (Bethesda). 2010;25(3):132–141.

Schürch S et al. A captive bubble method reproduces the in situ behavior of lung surfactant monolayers. J Appl Physiol (1985). 1989;67(6):2389–2396.
Slutsky AS, Ranieri VM. Ventilator-induced lung injury. N Engl J Med. 2013;369(22):2126–2136.
Tafel O et al. Surfactant proteins SP-B and SP-C and their precursors in bronchoalveolar lavages from children with acute and chronic inflammatory airway disease. BMC Pulm Med. 2008;8:6.
Zuo YY et al. Current perspectives in pulmonary surfactant—inhibition, enhancement and evaluation. Biochim Biophys Acta. 2008;1778(10):1947–1977.

Záver

Pľúcny surfaktant predstavuje jeden z hlavných faktorov mechanickej stability pľúc, efektívnej výmeny plynov a zachovania funkčnej integrity alveolárneho priestoru. Jeho význam však nemožno redukovať iba na klasické vysvetlenie znižovania povrchového napätia. Súčasné poznatky ukazujú, že surfaktant je komplexný a dynamický systém, ktorého vlastnosti vyplývajú z presne organizovaných interakcií medzi lipidovými a proteínovými zložkami, z ich priestorového usporiadania na rozhraní vzduch – tekutina, ako aj z jeho zapojenia do bunkových a zápalových procesov v pľúcnom tkanive.

Cieľom skrípt je ukázať, že porozumenie fyziológii surfaktantu je nevyhnutným predpokladom pre správnu interpretáciu jeho dysfunkcie v klinických aj experimentálnych podmienkach. Kým pri niektorých stavoch dominuje kvantitatívny deficit surfaktantu, pri iných ide skôr o jeho kvalitatívne zmeny, narušenú distribúciu, zmenu zloženia alebo zmenu recyklácie v prostredí zápalu, edému a mechanického poškodenia pľúc. Práve táto biologická a patofyziologická heterogenita vysvetľuje, prečo úspech surfaktantovej terapie nemožno automaticky očakávať u rôznych vekových skupín a klinických patologických jednotiek.

Osobitný význam má využitie teoretických poznatkov pri vývoji exogénnych surfaktantov. Moderný exogénny surfaktant nemá byť chápaný len ako náhrada chýbajúceho materiálu, ale ako presne navrhnutý biofyzikálny a biologický systém, ktorého účinnosť závisí od molekulárneho zloženia, odolnosti voči inaktivácii, spôsobu podania, distribúcie v pľúcach a jeho schopnosti zachovať si funkciu v odlišných patofyziologických podmienkach pľúcneho poškodenia. Budúci pokrok preto nebude založený iba na optimalizácii jednotlivých zložiek surfaktantu, ale na prepájaní viacerých úrovní poznatkov, od štruktúry a dynamiky reorganizácie surfaktantového filmu na rozhraní vzduch – tekutina, cez experimentálne modely, až po racionálne navrhnuté stratégie podania.

Významnú úlohu v tomto procese zohrávajú experimentálne modely a metodické prístupy používané na hodnotenie surfaktantu. Žiadny model nie je univerzálne platný a jednotlivé metodické prístupy zachytávajú len čiastočné aspekty funkcie surfaktantu. *In vitro* systémy umožňujú presne charakterizovať povrchovú aktivitu a odolnosť voči inaktivácii, zatiaľ čo *in vivo* modely prinášajú informáciu o distribúcii, fyziologickej odpovedi a terapeutickom efekte v komplexnom biologickom prostredí. Interpretácia výsledkov preto vyžaduje jednoznačné zohľadnenie limitov jednotlivých modelov a integráciu biofyzikálnych, morfologických a funkčných dát do jednotného interpretačného rámca.

Z pedagogického aj výskumného hľadiska je preto pľúcny surfaktant vhodným príkladom témy, na ktorej možno demonštrovať, že fyziológia nie je izolovaný opis normálnej funkcie, ale základ pre pochopenie patofyziológie, diagnostiky, experimentálneho modelovania aj racionálnej terapie. Práve v tom spočíva aj hlavný odkaz týchto skrípt. Porozumenie surfaktantu si vyžaduje integráciu poznatkov od molekulovej organizácie a biofyziky rozhrania až po experimentálne modely a klinický kontext. Napriek významnému pokroku zostáva viacero kľúčových otázok nezodpovedaných. Aké molekulové vlastnosti musí mať ideálny syntetický surfaktant pre rôzne typy respiračného zlyhania? Aký spôsob podania zabezpečí najlepšiu distribúciu v heterogénne poškodených pľúcach? Ktoré experimentálne ukazovatele spoľahlivo predikujú klinický efekt? Aj tieto otázky prispievajú k tomu, že výskum surfaktantu je dynamickou oblasťou na rozhraní fyziológie, biofyziky, farmakológie a translačnej medicíny.

Zoznam obrázkov

Obrázok 1 Znázornenie vzťahu medzi atmosférickým, intraalveolárnym, interpleurálnym a transpulmonálnym tlakom na konci exspíria. Intraalveolárny tlak sa rovná atmosférickému, nedochádza k prúdeniu vzduchu. Interpleurálny tlak je negatívny a rozdiel medzi nimi je transpulmonálny tlak, ktorý udržiava pľúca rozvinuté (upravené podľa Betts et al., 2022)..... 15
Obrázok 2 Dychové objemy a kapacity. Krivka predstavuje dychový objem (V_T) a jeho rozšírenie o inspiračný (IRV) a exspiračný rezervný objem (ERV). Zobrazené sú základné pľúcne kapacity: vitálna kapacita (VC), funkčná reziduálna kapacita (FRC) a celková kapacita pľúc (TLC), pričom reziduálny objem (RV) zostáva v pľúcach aj po maximálnom exspíriu (upravené podľa Hall, 2020). 20
Obrázok 3 Schéma znázorňuje ventilačno-perfúzny pomer ($\dot{V}_A/\dot{Q}$) v troch situáciách: skratová perfúzia (nízke $\dot{V}_A/\dot{Q}$), normálny stav ($\dot{V}_A/\dot{Q} \approx 0,8$) a ventilácia mŕtveho priestoru (vysoké $\dot{V}_A/\dot{Q}$). Obrázok ilustruje, ako nesúlad medzi ventiláciou a perfúziou vedie k neefektívnej výmene plynov a nedostatočnej oxygenácii krvi (vlastné spracovanie Mikolka P., 2026). 26
Obrázok 4 Schéma mechanizmu hypoxickej pľúcnej vazokonstrikcie. Znížený parciálny tlak O_2 v alveolách vyvoláva vazokonstrikciu v priľahlom pľúcnom riečisku. Tým sa obmedzuje perfúzia nedostatočne ventilovaných oblastí a prietok krvi sa smeruje do lepšie ventilovaných častí pľúc, čím optimalizuje ventilačno–perfúzny pomer (upravené podľa Kumar, 2018). 28
Obrázok 5 Schematické znázornenie alveolokapilárnej membrány ako rozhrania medzi alveolárnym vzduchom a krvou v pľúcnej kapiláre (upravené podľa Laniece AS., 2018). 33
Obrázok 6 Laplaceov zákon. Tlak (P) vo vnútri gule je priamo úmerný napätiu (T) v stene a nepriamo úmerný polomeru gule (r) (upravené podľa Yahya S. et al., 2023). 38
Obrázok 7 Tlakovo-objemová krivka demonštrujúca pľúcnu hysterézu. Znázorňuje vzťah medzi zmenou transpulmonálneho tlaku a dychovým objemom pľúc počas inspíria a exspíria. Krivka počas inspíria má odlišný priebeh než krivka počas exspíria, čím vzniká uzavretá krivka – hysteréza (upravené podľa Kumar R., 2018). 40
Obrázok 8 Zloženie a molekulárna organizácia pľúcneho surfaktantu(PS). (A) Relatívne percento rôznych zložiek v PS; (B) reprezentatívna štruktúra PS; (C) molekulárne znázornenie surfaktantového proteínu (SP)-A; (D) molekulárne znázornenie SP-C; (E) molekulárne znázornenie SP-B; (F) molekulárne znázornenie SP-D. DPPC, dipalmitoylfosfatidylcholín; NL, neutrálny lipid; PC, fosfatidylcholín; PG, fosfatidylglycerol; PL, fosfolipid; SP, surfaktantový proteín (upravené podľa Wang et al., 2021). 46
Obrázok 9 Štruktúra viacvrstvového povrchového filmu surfaktantu. Obrázok demonštruje, že surfaktant na rozhraní vzduch – tekutina neexistuje ako jednoduchá izolovaná monovrstva, ale ako dynamicky organizovaný viacvrstvový systém, v ktorom sú fosfolipidy (najmä DPPC) a hydrofóbne proteíny SP-B a SP-C funkčne prepojené. (a, b). Po adsorpcii surfaktantu vzniká viacvrstvová štruktúra s povrchovou monovrstvou bohatou na DPPC a lipidovým rezervoárom v hypofáze. DPPC pri kompresii vytvára kondenzované domény umožňujúce nízke povrchové napätie. (c) SP-B podporuje reorganizáciu a presun lipidov z rezervoáru do povrchovej vrstvy. (d) SP-C stabilizuje viacvrstvové usporiadanie počas kompresie. (e) Integrovaný model ukazuje synergický mechanizmus: DPPC zabezpečuje nízke povrchové napätie, SP-B sprostredkuje reorganizáciu a výmenu lipidov a SP-C stabilizuje viacvrstvovú architektúru. Účinnosť surfaktantu je teda výsledkom koordinovanej spolupráce lipidov a proteínov počas každého dychového cyklu (Pérez-Gil J., 2008)..... 52
Obrázok 10 Lamelárne telieska na apikálnom povrchu alveolárnych buniek II typu zobrazené pomocou transmisnej elektrónovej mikroskopie. Šípka ukazuje na tesné spojenie (tight junction) medzi pneumocytmi (zdroj Bingle L et al., 1990). 57
Obrázok 11 Spracovanie a finálna sekvencia aminokyselín SP-B (dole). Proproteín je postupne štiepený rôznymi proteázami počas celej sekrečnej dráhy, až kým sa v lamelárnych telieskach nenachádza vo svojej zrelej forme (ER, endoplazmatické retikulum; MVB, multivezikulárne telieska; CB, kompozitné telieska; LB, lamelárne telieska) (Collada, 2026)..... 58
Obrázok 12 Spracovanie a finálna sekvencia SP-C aminokyselín (dole). Proproteín SP-C je dvojito acylovaný palmitoyltransferázou a prenesený z Golgiho aparátu do MVB. Tam pokračuje jeho spracovanie až do LB, kde dosiahne zrelú formu. Nie všetky enzýmy zúčastňujúce sa procesu

dozrievania sú známe (ER, endoplazmatické retikulum; MVB, multivezikulárne telieska; CB, kompozitné telieska; LB, lamelárne telieska) (Collada, 2026). 59
Obrázok 13 Metabolizmus pľúcneho surfaktantu. Po syntéze v endoplazmatickom retikule a úprave v Golgiho aparáte dochádza pomocou transportéra $ABCA_3$ k baleniu lipidov a proteínov SP-B a SP-C do lamelárnych teliesok. Po sekrécii do alveolárneho priestoru vytvára surfaktant veľké agregáty a následne funkčný surfaktantový film. Malé surfaktantové agregáty sú buď spätne recyklované pneumocytmi II. typu, alebo vychytávané a katabolizované alveolárnymi makrofágmi (upravené podľa Jobe, 2025). 63
Obrázok 14 Pľúcny surfaktant vytvára povrchový film na rozhraní vzduch – tekutina nad hypofázou pokrývajúcou alveolárny epitel. V hypofáze sa nachádzajú multilamelárne agregáty a tubulárny myelín, ktoré predstavujú rezervoár surfaktantového materiálu. Hydrofóbne surfaktantové proteíny SP-B a SP-C sa podieľajú na organizácii a dynamike lipidových štruktúr, SP-A je súčasťou tubulárneho myelínu a SP-D sa nachádza prevažne v rozpustnej forme v hypofáze (upravené podľa Fröhlich E,, 2022). 73
Obrázok 15 Dynamické správanie lipidového filmu počas dychového cyklu. Graf znázorňuje časový priebeh povrchového napätia počas jedného dychového cyklu. Počas inspíria dochádza k zväčšeniu alveolárnej plochy, čo vedie k postupnému zvýšeniu povrchového napätia. Počas exspíria sa plocha zmenšuje, lipidový film sa komprimuje a povrchové napätie prudko klesá na veľmi nízke hodnoty (upravené podľa Francis a Saha, 2022). 75
Obrázok 16 Fázový diagram monovrstvy dipalmitoylfosfatidylcholínu (DPPC). Graf znázorňuje závislosť laterálneho tlaku (mN/m) od plochy pripadajúcej na jednu molekulu ($Å^2$) pri postupnej kompresii lipidovej monovrstvy na rozhraní vzduch – tekutina. Pri veľkej ploche na molekulu sa DPPC nachádza v tzv. liquid-expanded (LE) fáze, charakterizovanej voľnejším usporiadaním acylových reťazcov a nižším laterálnym tlakom. So zmenšovaním plochy prechodne koexistujú LE a liquid-condensed (LC) fázy, v ktorej sa postupne formujú domény tesne zabalených molekúl. Pri ďalšej kompresii prechádza monovrstva do LC fázy, kde sú saturované palmitoylové reťazce usporiadané paralelne a kompaktne. V tomto stave laterálny tlak prudko stúpa a povrchové napätie klesá na veľmi nízke hodnoty. Schematické nákresy nad grafom ilustrujú zmeny molekulárneho usporiadania počas kompresie. Vložený molekulový model zobrazuje štruktúru DPPC, tvorenú dvoma saturovanými reťazcami mastných kyselín (C16:0) a polárnou fosfatidylcholínovou hlavou (upravené podľa Roke et al., 2003). 77
Obrázok 17 Vzťah medzi objemom pľúc, transpulmonálnym tlakom a povrchovým napätím počas inflácie a deflácie pľúc. (A) Tlakovo-objemová (P–V) krivka pri postupnej inflácii a následnej deflácii. Objem pľúc sa menil po krokoch a po každom kroku bol krátko udržiavaný konštantný, aby sa systém priblížil k rovnovážnemu stavu. Časovo závislá relaxácia tlaku pri konštantnom objeme, súvisiaca s reorganizáciou surfaktantového filmu, sa na krivke prejavuje ako malé „zuby“. (B) Vzťah medzi povrchovým napätím surfaktantového filmu (γ) a objemom pľúc. Počas inflácie sa alveolárny povrch zväčšuje a surfaktantový film sa prechodne „zrieďuje“, čo vedie k vzostupu povrchového napätia; následná adsorpcia surfaktantu ho znižuje. Počas exspíria kompresia surfaktantového filmu umožňuje výrazný pokles povrchového napätia. Vertikálna čiara označuje približnú rovnovážnu hodnotu povrchového napätia ($\gamma_EQ \approx 28$ dyn/cm). Obrázok znázorňuje hysterézu medzi infláciou a defláciou a jej súvis s dynamikou surfaktantového filmu. Poznámka: Pôvodný zdroj uvádza povrchové napätie v jednotkách dyn/cm, ktoré sú numericky ekvivalentné jednotkám mN/m používaným v sústave SI (1 dyn/cm = 1 mN/m) (zdroj Smith a Stamenovic, 1986). 79
Obrázok 18 Schéma alveol za fyziologických (A) a patologických (B) podmienok. Pravá časť obrázka zobrazuje detail hlavných znakov poruchy surfaktantu pri syndróme respiračnej tiesne (RDS) u novorodencov, syndróme akútnej respiračnej tiesne (ARDS) a syndróme aspirácie mekónia (MAS) (upravené podľa Echaide et al., 2017). 91
Obrázok 19 Schematická reprezentácia peptidových analógov surfaktantových proteínov. (A) Fosfolipidové zloženie a analógy syntetického surfaktantu CHF5633. (B) Fosfolipidové zloženie a analógy syntetického surfaktantu s rekombinantným analógom SP-C33Leu. (C) Schematická štruktúra a hypotetický model Combo peptidu a jeho interakcií s fosfolipidmi. Combo peptid predstavuje spojenie analógov Mini-BLeu a SP-C33Leu do jedného polypeptidu pomocou krátkeho GSG linkera. DPPC dipalmitoylphosphatidylcholine, POPG palmitoyloleoylphosphatidylglycerol, Egg-PC phosphatidylcholine (upravené podľa Basabe-Burgos et al., 2021). 108

Obrázok 20 Schematické znázornenie Langmuirovej vaničky. Film vzniká nanesením surfaktantu na rozhranie vzduch – tekutina na povrchu vodnej hypofázy v Langmuirovej vaničke. Pohybom bariéry sa mení plocha monovrstvy; jej zmenšovanie vedie k zvýšeniu povrchového tlaku (t. j. k zníženiu povrchového napätia). Povrchové napätie sa určuje meraním zmeny vertikálnej sily pôsobiacej na Wilhelmyho platničku čiastočne ponorenú do kvapaliny (upravené podľa Zuo et al., 2008). 118
Obrázok 21 Schéma pulzujúceho bublinového surfaktometra (PBS). Komôrka naplnená malým objemom testovanej látky je umiestnená na pulzačnej jednotke. Odsatím časti kvapaliny sa v kapiláre vytvorí bublina s minimálnym polomerom (R min). Rozdiel tlakov na rozhraní bubliny sa zaznamenáva počas adsorpcie surfaktantu a z týchto hodnôt sa vypočíta povrchové napätie. Následne sa bublina cyklicky zväčšuje a zmenšuje medzi R min a R max (približne 20 cyklov za minútu), pričom sa sledujú zmeny povrchového napätia. Detail na obrázku znázorňuje únik surfaktantového filmu do vody v kapiláre počas tvorby bubliny, ktorý môže ovplyvniť meranie (upravené podľa Zuo et al., 2008)..... 119
Obrázok 22 Schéma surfaktometra so zachytenou bublinou. Zachytená vzduchová bublina stúpa k hydrofilnému stropu komôrky, od ktorého je oddelená tenkou zmáčacou vrstvou tekutiny. Táto vrstva zabraňuje úniku surfaktantového filmu, ktorý sa pri nízkych hodnotách povrchového napätia môže objavovať pri iných typoch surfaktometrov. Vložený detail znázorňuje viacvrstvovú štruktúru adsorbovaného pľúcneho surfaktantu na rozhraní vzduch – tekutina na povrchu bubliny. Povrchové napätie sa určuje analýzou tvaru bubliny a plocha rozhrania sa mení úpravou hydraulického tlaku v komôrke (upravené podľa Zuo et al., 2008)..... 120
Obrázok 23 Schéma metódy ohraničenej ležiacej kvapky (Constrained sessile drop, CSD). Kvapka surfaktantu je vytvorená na podstavci so špeciálnou ostrou hranou, ktorá bráni jej rozlievaniu aj pri nízkom povrchovom napätí a tým zabraňuje úniku surfaktantového filmu. Kvapka je spojená so zásobníkom surfaktantového roztoku. Tvorba a cyklické zmeny objemu kvapky sa riadia pomocou počítačom ovládanej striekačky. Povrchové napätie sa určuje analýzou tvaru kvapky. Celé zariadenie je umiestnené v komore s kontrolovanými podmienkami prostredia (upravené podľa Zuo et al., 2008). 121
Obrázok 24 Schéma atómovej silovej mikroskopie (AFM). Na pružnej konzole (cantilever) je umiestnený ostrý hrot, ktorý interaguje s povrchom analyzovanej vzorky. Interakčné sily medzi hrotom a povrchom spôsobujú vychýlenie alebo zmenu oscilácií konzoly. Tieto zmeny sa detegujú pomocou laserového lúča odrazeného od zadnej strany konzoly na polohovo citlivý fotodetektor. V dynamických režimoch AFM môže byť oscilácia konzoly navodená piezoelektrickým aktuátorom. Skenovaním povrchu a zaznamenávaním odozvy konzoly sa získava topografický obraz vzorky s nanometrovým rozlíšením (upravené podľa: Nanosurf, How does AFM work, https://www.nanosurf.com/en/support/how-does-afm-work). 123
Obrázok 25 Schematické znázornenie mikrofluidného systému „pľúc na čipe“. Prierez modelom zobrazuje hornú komoru vystlanú ľudskými pľúcnymi epitelovými bunkami a dolnú komoru vystlanú pľúcnymi endotelovými bunkami, ktoré sú oddelené tenkou poréznou membránou. Bočné vákuové kanáliky rozťahujú membránu, čím napodobňujú mechanické sily pri dýchaní v podmienkach in vivo (upravené podľa Cidem et al. 2020)..... 128
Obrázok 26 Porovnanie vybraných zvieracích modelov používaných pri experimentálnom štúdiu primárneho deficitu pľúcneho surfaktantu. Schéma sumarizuje hlavné výhody a nevýhody modelových zvierat. Predčasne narodené králiky predstavujú praktický kompromis medzi biologickou relevanciou, experimentálnou dostupnosťou a technickou náročnosťou, zatiaľ čo veľké zvieracie modely poskytujú širšie možnosti komplexného monitorovania a translačne orientovaných štúdií (vlastné spracovanie Mikolka P., 2026)..... 131

Zoznam tabuliek

Tabuľka 1 Zloženie prírodných surfaktantov (upravené podľa Perez-Gil, 2022).....103

Tabuľka 2 Porovnanie syntetických a prírodných surfaktantových preparátov (upravené podľa Walther a Waring, 2024).....110

Tabuľka 3 Prehľad modelov sekundárnej dysfunkcie surfaktantu (upravené podľa Matute-Bello et al., 2008 a odporúčaní American Thoracic Society pre experimentálne modely akútneho poškodenia pľúc 2011, 2022).....135