

OTKA kutatási pályázat (T42971) zárójelentése

A kutatás eredeti célkitűzései

A kutatási koncepció a légutak záródási és újranyírási eseményeinek diszkrét jellegén, ezen események sorozatainak belső összefüggésein alapult. Célunk volt annak feltárása, hogy a légúti rendszer struktúrájának átrendeződése, az ezt kísérő hangjelenségek (crackle) és a pulmonális mechanikai változásai között milyen kapcsolat áll fenn. Előzetes kísérleteink alapján feltételeztük, hogy (a) a hangesemények jelalakját a kinyíló légúti szakasz mérete és a detektálási helyig vezető struktúrák csillapítása határozza meg, (b) a kollabált tüdő kinyírása lavinaszerűen, a periféria irányában történik, és e folyamatot a crackle eseménysorozat tükrözi, (c) a crackle infláció közbeni megjelenése a megelőző, mechanikai mérésekkel igazolható restriktív állapotot bizonyítja és végül (d) a mesterséges lélegeztetés belégzési fázisában megjelenő crackle a ciklikus elzáródási-kinyírási folyamatokat jelzi: detektálása segít az optimális lélegeztetési paraméterek beállításában.

E feltevések igazolására először speciális körülmények között, elsősorban izolált tüdőkön végzett kísérleteket terveztük, melyektől a légúti rendszerben lejátszódó dinamikus folyamatok alapvető strukturális és fizikai korrespondenciái tisztázódhatnak. Az ezt követő stúdiumok során olyan *in vivo* állatkísérletes (és későbbi humán) vizsgálatokat kívántunk kialakítani, amelyek a légzőfelületnek a mesterséges lélegeztetés körülményei közötti változásaira, a mechanikai és akusztikai adatok kapcsolataira irányulnak. Az állatkísérletes modelleknek itt annak eldöntésében szántunk kulcsszerepet, hogy a légzési elégtelenség optimális respirációs terápiáját a légzési hangok feldolgozásának egy viszonylag egyszerű "bedside" módszere mennyire segíthet kialakítani, illetőleg ellenőrizni.

Kutatási munkatervünk szerves része volt az akusztikus események *funkcionális* hátterét, a tüdő mechanikai állapotát a lehető leghűbben jellemző mérési technikák alkalmazása és továbbfejlesztése is, amelyek központjában az oszcillációs módszer áll. A *strukturális* háttér statikus, *in vitro* tanulmányozásától a célkitűzések során nem vártunk fontos információkat, a relevánsabb *in vivo* vizsgálatra (intravitális mikroszkópia) viszont csak később, a kutatómunka során körvonalazódott lehetőség.

A kutatás feltételei

Az SZTE Orvosi Informatikai Intézete és Sebészeti Műtéttani Intézete munkatársaiból álló kutatócsoport nagy tapasztalattal rendelkezett a légzőrendszer mechanikai tulajdonságainak vizsgálata terén; a kollektíva nevéhez fűződik a légzőrendszer alacsonyfrekvenciás oszcillációs mechanikájának módszertani alapvetése, a légúti és szöveti mechanikai paraméterek neminvaszív (a bemeneti impedancia mérésén alapuló) szeparált meghatározásának technikája. A légzésmechanikai módszertan továbbfejlesztésében ösztönző volt a University of Western Australia, Center for Child Health Research kutatóival folytatott együttműködés, mely a légzőrendszer fejlődésélettanának kis kísérleti állatokban való tanulmányozására irányult. A projekt másik fő vonulatát, a kinyírási hangesemények strukturális és fizikai hátterét és kapcsolatait illetően meghatározó volt a már több éves együttműködés a Boston University kollektívájával egy, a National Science Foundation által támogatott kutatásban, amely az

“akusztikus morfometria” alkalmazásával a légúti rendszer struktúrájára a benne végbemenő kinyílási lavinafolyamat követésével próbált következtetni. Az együttműködés szándéknyilatkozattal is megerősített folytatásához a pályázó munkacsoport elsősorban az experimentális technikák területén, a bostoni kollektíva a mérési adatok statisztikai és számítógépes szimulációs elemzése kapcsán alakított ki olyan eszköztárat, amely e pályázathoz is fontos módszertani kiindulópont volt. Az alapjelenségek tisztázására épülő, a pályázatban előrevetített humán alkalmazás (az akusztikai monitorozás lehetőségei a légzési elégtelenség terápiájában) megközelítésében nem csupán az állatkísérletes munka sikeres kimenetele, hanem az Semmelweis Egyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikája munkatársainak bekapcsolódása volt fontos feltétel.

A közvetlen résztvevők köre a pályázatban tervezetthez képest bővült. Az SE AITK tanársegédének (Lorx Andrásnak) a 2005. évi részjelentésben már feltüntetett csatlakozása mellett Jánosi Tibor Zoltán, a témavezető PhD ösztöndíjas hallgatója (2003-2006) kutatási témájának e projekt tematikájával való kapcsolata révén szintén bővítette a résztvevők körét. Örvendetes volt diákkörös hallgatók részvétele és eredményességük a kísérletes és értékelési munkákban.

A kutatás formális mutatói

E projekt OTKA azonosítójának feltüntetésével 10 teljes terjedelmű külföldi közlemény [3-7, 12, 13, 16-18] jelent meg, ezek össz-impaktfaktora 33.39. A vonatkozó – és közleménnyel még ki nem váltott - absztraktok száma 9 [1, 2, 8-11, 14, 15, 19]. Két további közlemény benyújtása történt meg, ezeket itt soroljuk fel:

20. *Elizabeth M. Bozanich, Tibor Z. Jánosi, Rachel A. Collins, Cindy Thamrin, Debra J. Turner, Zoltán Hantos, Peter D. Sly: Methacholine responsiveness during development in mice (J Appl Physiol, átdolgozás után)*
21. *Arnab Majumdar, Zoltán Hantos, József Tolnai, Harikrishnan Parameswaran, Robert Tepper and Béla Suki: Estimating the diameter of airways susceptible for collapse using crackle sound. (J Appl Physiol, átdolgozás alatt)*

Az eredmények összefoglalása

A légzőrendszer mechanikai tulajdonságainak vizsgálata: módszertani kutatások

E vizsgálatok mottója a légzőrendszer strukturális egységeinek szeparált mechanikai jellemzése, a rutin kísérleti technikák aspecifikus, összeolvasztó és pontatlan tulajdonságainak kiküszöbölésével. A korábban általunk kifejlesztett – és egyre több független munkacsoport által használt - kisamplitudójú, alacsonyfrekvenciás oszcilláció technikáját a légzőrendszer mechanikai tulajdonságainak tanulmányozására különböző speciosekben és mérési feltételek mellett alkalmaztuk. Új megfigyelés [14], hogy a komplexebb kórképek (COPD) esetében gyakran mond csődöt az alacsonyfrekvenciás mechanika modellje, mely a kísérletes bronchokonstriktió vagy emfizéma állapotokban viszont mindig adekvát leírást nyújt [1, 8, 11, 16, 17, 20].

A légúti és szöveti mechanika particionálásához alkalmazott modell érzékenységvizsgálatával [6] az eltérő méretű speciosek méréseinek optimalizálását kívántuk segíteni. A spontán légzés közben

rutinszerűen, közepes oszcillációs frekvenciákon meghatározott légzőrendszeri impedancia modellanalízisével [2, 15, 19] a légutak és a légzőrendszeri szövetek tulajdonságainak szétválasztására tettünk kísérletet. Alapvetően eltérő és ritkán alkalmazott megközelítést, speciális technikai felkészültséget jelent a magas oszcillációs frekvenciasáv (néhány 100 Hz) használata, mellyel a nagyobb légutak falainak mechanikai sajátosságaira lehet következtetni [13].

A légúti és szöveti mechanika mérése légzőrendszeri betegségmodellekben

Bár e vizsgálatokat akusztikai mérések nem, vagy csak tájékozódó jelleggel kísérték, a tanulmányozott állapotokat a perifériás légutak fokozott instabilitása jellemezte. Koraszülött bárányokban az intraamniotikus endotoxin hatását vizsgáltuk a mechanikai állapotot meg nem változtató kisamplitudójú alacsonyfrekvenciás oszcilláció módszerével, és kimutattuk, hogy a szöveti rezisztív és elasztikus ellenállás a surfactant poolok méretével radikálisan csökken, a perifériás légterek nyitottságának elősegítése révén [5].

Izolált és perfundált patkánytüdőkből a perfúzióknak az alveoláris stabilitásban játszott szerepét vizsgáltuk és azt állapítottuk meg, hogy alacsony transzpulmonális nyomás mellett a kapillárisok vérteltségének kulcsszerepe van a normális alveoláris architektúra fenntartásában [4]. E kézenfekvő mechanizmus hatását – meglepő módon – nem demonstrálta a korábbi szakirodalom.

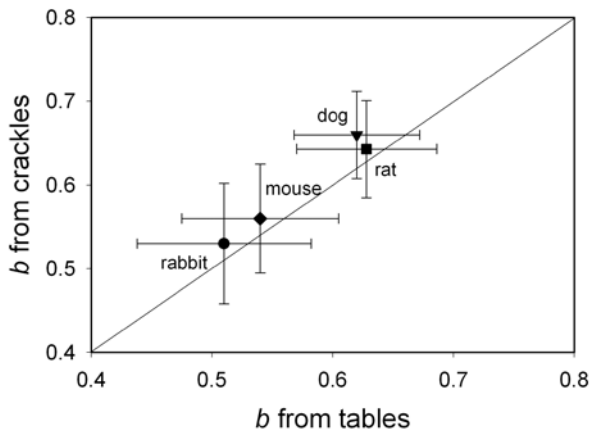
Az intrathorakális gáztérfogató mérésének módszerét adaptáltuk egérben az apnoés körülményekre [18], melyek az alacsonyfrekvenciás mechanikai mérések szempontjából előnyösek, de megghiúsítják a Boyle-Mariotte törvényen alapuló pletizmográfiai mérési lehetőséget. A légzőizmok stimulálásán alapuló módszerünk leírását követően kifejlesztettük a patkány mérésére alkalmas nagyobb eszközt is. A módszer előnye, hogy a légzési drive gyengülése-megszűnése mellett is meghatározható az abszolút tüdőterefogat – tetszőleges időpontban, amely gyors változások (pl. recruitment-derecruitment, tranziens farmakológiai hatások) esetén fontos lehet. E technikát beillesztettük a lassú belégzési-kilégzési manőver közbeni folyamatos oszcillációs mechanikai stúdiumainkba, mellyel a légúti és szöveti mechanikai paraméterek térfogatfüggését már abszolút volumenskálán tanulmányozhatjuk: ilyen stúdiumok az egér légzőrendszeri fejlődésének a 2-8 hét életkortartományban való követése [11], ugyanitt a bronchokonstriktor hatások változásának kiértékelése [20], valamint az egerekben megfigyelt, rejtélyes kettős szigmoid nyomás-térfogat görbe mögötti bimodális szöveti mechanika elemzése [9]. E vizsgálatok [9, 11] eredményeit közlésre készítettük elő.

E módszer alapvető fontosságú volt az egerekben létrehozott emfizéma mechanikai megnyilvánulásainak tanulmányozásában [8]. Az elasztáz-kezelés az FRC 51%-os emelkedését, a dinamikus (oszcillációs) elastance 50%-os (FRC-n) és 26%-os (TLC-n) csökkenését eredményezte, miközben a légúti ellenállás mindkét tüdőterefogaton változatlan maradt. Az eredmények egy korai, szelektív, a légúti funkció károsodásával még nem járó szöveti destrukció modelljének felelnek meg, közlésük folyamatban van. A strukturális változások kimutatásában áttörést ígérnek előzetes méréseink az ortogonális polarizációs spektrális képalkotással, a szubpleurális alveolusok *in vivo* vizualizációjával, melyek az elasztázzal kezelt állatokban az alveolusok megnagyobbodását rendkívül meggyőzően demonstrálják. Nem találtunk azonban érezhető különbséget a kezelt és kezeletlen állatok között a gáztalanított állapotból való reinfláció (lásd alább) crackle eseményei között: ez arra utal, hogy a légúti ellenállás mellett a hörgők kollapszushajlama sem változik e modellben.

A légúti újrainflációk akusztikai megnyilvánulásai

Izolált kutyatüdőkben végzett méréseinkkel kimutattuk, hogy a kollabált állapotból történő reinflációt kinyílási hangok ezrei kísérik. A crackle teljesítmény eloszlása a nyomás-térfogat görbe alsó könyökén mutat maximumot, intenzitásuk csökkenésével számuk nő, bizonyítva, hogy a légutak a centrális-perifériás irányban lavinaszerűen nyílnak, és hogy az alsó könyök kialakulásában a légúti kinyílások, mintsem az alveoláris recruitment a döntő mechanizmus [3].

Az izolált és kollabált tüdők reinflációjakor mért hangok intenzitása hasonló hatványfüggvény



eloszlásokat mutatott a vizsgált négy speciesben (egér, patkány, nyúl és kutya), és e mögött a bronchusok eltérő elágazási mintái által meghatározott csillapítási mechanizmusok állnak. Az akusztikus morfometriai módszerünkkel kapott adatok imponáló egyezést mutatnak a légúti öntvények és szöveti metszetek morfometriai elemzésével kapott irodalmi táblázati adatokkal: az ábrán a légúti elágazódások keresztmetszet-hányadosait (b) látjuk (a közlemény előkészületben van). A recruitment és az akusztikus aktivitás

kapcsolatáról, a crackle sorozatok textúráját meghatározó mechanizmusokról egy összefoglaló közleményt készítettünk [7]. Egy másik tanulmány [12] a légúti elágazódási mintázatok és a globális áramlási ellenállás összefüggéséről egy rangos fizikai folyóiratban jelent meg.

Izolált nyúltüdőkön, az egymást követő reinflációk során vizsgáltuk a crackle tevékenység és a nyomás-térfogat összefüggés alakulását. A kilégzés végén megmaradt gáztér (trapped air) méretének növekedésével eltorzult a crackle intenzitás eredetileg hatványfüggvényt követő eloszlása [3, 7], minthogy egy bizonyos intenzitástartományban megnőtt a hangesemények száma [21]. A mérési adatok szimulációs vizsgálatokkal alátámasztott analízise azt mutatta, hogy a kinyílások egyik csoportja a hörgőgenerációk egy szűkebb tartományához köthető. E vizsgálatok azt ígérnek, hogy a fokozott kollapszushajlamú légúti generációk azonosíthatók a crackle tevékenység alapján.

In vivo akusztikai és mechanikai mérések

Az akusztikai mérések terén áttértünk a módszertanilag bonyolultabb *in vivo* crackle detektálásra. Egérben kidolgoztuk a reinflációs modellt, melyben az oxigénnel történő lélegeztetés és az ezt követő trachea-okklúzió nagymértékű tüdőkollapszust okoz zárt mellkas mellett is, és a domináló kardiogén hangnyomásjel mögött megjelennek a reinflációt kísérő crackle hangok. E kísérleti elrendezéssel nyert előzetes megfigyelések alátámasztják a hangdetektálás és légzésmechanikai mérés kivitelezhetőségét akut tüdőkárosodás, ill. krónikus elváltozások tanulmányozása céljából, más speciesben is. A crackle rögzítési technikájának tökéletesítésére sok energiát fordítottunk a célból, hogy az élő egérben az akusztikus mélységet megnövelhessük, és a reinflációként eddig detektált néhány száz crackle [10] helyett több, a perifériásabb légutak kinyílását is jelző hangeseményt érzékelhessünk. Az áthághatatlan tűnő technikai korlátok miatt célszerűnek

látszik az áttérés más specierekre (pl. patkányra) minden, a kinyírási dinamika szempontjából is releváns betegségmodellnél.

Először sikerült kombinálnunk a dinamikus mechanikai és akusztikus méréseket *in vivo* kísérletekben. Mesterségesen lélegeztetett minisertésekben tanulmányoztuk a kilégzésvégi nyomás és növekvő dóziszú bronchokonstriktor (methakolin) hatását (a) az alacsonyfrekvenciás oszcillációs mechanikai impedanciából meghatározott légúti ellenállás és a szöveti viszkoelaszticitás paramétereire, (b) a 30 hPa nyomásra történő lassú belégzés során felvett pulmonális nyomástér fogat összefüggésre és (c) a közben intratracheálisan felvett légzési hangok gyakoriságára és intenzitására [16]. Megállapítottuk, hogy a csökkenő transzpulmonális nyomással és a növekvő konstriktordózissal a légúti ellenállás és a szöveti elastance fokozódását a belégzési crackle hangok intenzitásának növekedése kíséri, és ezek hamarabb érik el a statisztikailag szignifikáns növekedés szintjét, mint a légúti ellenállásnak vagy a szöveti mechanikai paramétereknek – az egyébként igen érzékeny alacsonyfrekvenciás oszcillációval meghatározott – értékei. A crackle detektálásával a légúti záródás-újrányítás folyamatai tehát finoman követhetők, és ezzel az atelektázis kialakulásának dinamikájára egyszerű és betegágy mellett alkalmazható módszer dolgozható ki.

A légzőrendszeri mechanika és az akusztikai jelenségek kapcsolatának tanulmányozásában megteremtődtek a humán vizsgálatok technikai és etikai feltételei, és az első mérésorozat kiértékelése is megkezdődött. Bebizonyosodott, hogy az intenzív terápiás környezet megszorításai közepette és zavar szintje mellett is jól detektálhatók hangesemények a lassú, mély infláció során. Bár mindez a gyakorlati alkalmazhatóság szempontjából ígéretes, az e beszámolóhoz kapcsolható határozott állásfoglalást a vizsgálatok mostani fázisában még korainak tartjuk.