

Dr n. med Jan Mazela

ROZPRAWA HABILITACYJNA

**Egzogenny syntetyczny surfaktant w aerozolu
w profilaktyce ZZO u noworodków**

Katedra i Klinika Neonatologii

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik: Prof. dr hab. Janusz Gadzinowski

Poznań, 2011

Z podziękowaniami dla Pana Profesora Janusza Gadzinowskiego

"Dicebat Bernardus Carnotensis nos esse quasi nanos, gigantium humeris insidentes, ut possimus plura eis et remotiora videre, non utique proprii visus acumine, aut eminentia corporis, sed quia in altum subvenimur et extollimur magnitudine gigantea"

„Bernard z Chartre mawiał, że jesteśmy jak karły siedzące na barkach olbrzymów mogące zobaczyć lepiej i więcej, nie dlatego, że mamy lepszy i ostrzejszy wzrok ale dlatego, że jesteśmy wyniesieni na wyżyny dzięki ich wielkości”

Jan z Salisbury (Metalogicon, 1159)

1.	Wstęp.....	5
1.1	Wprowadzenie.....	5
1.2	Rys historyczny leczenia Zespołu Zaburzeń Oddychania	5
1.3	Stosowanie egzogennych surfaktantów	9
1.4	CPAP donosowy z wczesną administracją surfaktantu	12
1.5	Aerzoloterapia w intensywnej terapii noworodka	15
1.6	Podawanie wziewnych surfaktantów w leczeniu ZZO.....	18
1.7	Lucinaktant (Surfaxin).....	20
2.	Cele.....	22
3.	Wyniki	23
3.1	Wyniki i wnioski pracy nr 1	23
3.2	Wyniki i wnioski pracy nr 2	25
3.3	Wyniki i wnioski pracy nr 3	27
3.4	Wyniki i wnioski pracy nr 4	33
3.5	Wyniki i wnioski pracy nr 5	35
4.	Podsumowanie.....	37
5.	Wnioski końcowe	40
6.	Streszczenie w języku polskim.....	41
7.	Streszczenie w języku angielskim	42
8.	Spis skrótów	43
9.	Piśmiennictwo	44

Praca habilitacyjna oparta jest na opublikowanych poniżej artykułach zawierających:

- wyniki badań przedklinicznych i klinicznych dotyczących podawania surfaktantów, w tym surfaktantu w postaci aerozolu
- opublikowany patent urządzenia do podawania leków wziewnych w tym surfaktantów oraz
- opis metody określania dawki wziewnej leków podczas mechanicznej wentylacji

- 1) Terry M, Merritt T, Harding B, Schroeder H, Merril-Henry J, Mazela J, Gregory T, Segal R, Power G, Blood A. PULMONARY DISTRIBUTION OF LUCINACTANT AND PORACTANT ALFA AND THEIR PERIDOSING HEMODYNAMIC EFFECTS IN A PRETERM LAMB MODEL OF RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME. *Pediatric Research* 2010;68(3):193-8.
- 2) Mazela, J., T. Merritt, and N. Finer. AEROSOLIZED SURFACTANTS. *Curr Opin Pediatr* 2007;19:155-162.
- 3) Mazela J, Henderson C, inventors; Discovery Laboratories, Inc., assignee. VENTILATION CIRCUIT ADAPTOR AND PROXIMAL AEROSOL DELIVERY SYSTEM. USA. 2009; WO/2009/117422. [PATENT]
- 4) Finer N, Merritt T, Bernstein G, Job L, Mazela J, Segal R. AN OPEN LABEL, PILOT STUDY OF AEROSURF COMBINED WITH NCPAP TO PREVENT RDS IN PRETERM NEONATES. *J Aerosol Med Pulm Drug Del* 2010;23:1-7.
- 5) Mazela J, Polin R. AEROSOL DELIVERY TO VENTILATED NEWBORN INFANTS: HISTORICAL CHALLENGES AND NEW DIRECTIONS. *Eur J Pediatr* 2011;170(4):433-444.

1. Wstęp

1.1 Wprowadzenie

Podawanie egzogennych surfaktantów poprawiło wyniki przeżywalności i zachorowalności noworodków urodzonych przedwcześnie z rozpoznaniem Zespołem Zaburzeń Oddychania (ZZO) (Mazela i wsp. 2006, Soll 2002, Soll i Morley 2001). Standardowo preparaty egzogennych surfaktantów są podawane dotchawiczo przez rurkę intubacyjną wraz z zastosowaniem ciągłej mechanicznej wentylacji. Jednak ten tryb aplikacji leków niesie ze sobą ryzyko występowania działań niepożądanych związanych z wprowadzaniem płynnej substancji bezpośrednio do dróg oddechowych. Ostatnio obserwowana tendencja do stosowania mniej inwazyjnych metod wentylacji w leczeniu niewydolności oddechowej u noworodków (Finer 2006) spowodowała, że klinicyści i naukowcy podjęli badania nad innymi nieinwazyjnymi metodami podawania egzogennych surfaktantów (Mazela i wsp. 2006). Do metod tych zalicza się podawanie surfaktantów z okresową intubacją bez ciągłej mechanicznej wentylacji (MW), podawanie surfaktantów z użyciem masek laryngologicznych, za pomocą cewnika bezpośrednio do tchawicy lub stosowanie nebulizacji surfaktantów wraz z utrzymywaniem stałych dodatnich ciśnień w drogach oddechowych (*Continous Positive Airway Pressure*)(CPAP) (Kribs 2011, Mazela i wsp. 2007, Mazela i wsp. 2006).

1.2 Rys historyczny leczenia Zespołu Zaburzeń Oddychania

Wczesne, XIX. wieczne obserwacje pomiarów napięcia powierzchniowego (Rayleigh 1890) stały się podstawą stworzenia matematycznego modelu LaPlace i Young, który umożliwił

zrozumienie zależności fizyko-chemicznych pomiędzy surfaktantem a barierą powietrze-woda (Rowlinson i Widom 1989). Tej wiedzy jednak nie wykorzystał Hochheim w 1903 roku, który jako pierwszy przedstawił histologiczną charakterystykę zespołu błon szklistych. Dlatego interpretacja procesów patofizjologicznych została dopiero opisana przez Kurt von Neergaard w 1929 roku, który jako pierwszy opisał mechanizmy wpływające na podatność płuc wypełnionych powietrzem i płynem (von Neergaard 1929). Następny krok milowy został dokonany przez Clements w 1950 roku, który zauważył, że powierzchnia wymiany gazowej płuc jest duża i nie zmniejsza się znacznie podczas wydechu (Clements 1956). Z kolei Mead i wsp. opisali rozkład sił napięcia powierzchniowego surfaktantu i przedstawili zależność pomiędzy ciśnieniem i objętością oddechową, wykreślając krzywe znane pod nazwą histerez, czy pętli oddechowych (Mead i wsp. 1957). W następstwie tych doniesień Avery i Mead dokonali analizy pośmiertnej noworodków urodzonych przedwcześnie i zmarłych w obrazie niewydolności oddechowej określanej wtedy mianem zespołu błon szklistych, gdzie stwierdzili niedobór surfaktantu w ekstraktach płuc (Avery i Mead 1959).

Znając już biochemiczny skład surfaktantu oraz główną przyczynę umieralności noworodków przedwcześnie urodzonych, dzięki wspomnianym powyżej badaniom, Robillard zapoczątkował w 1964 roku leczenie zespołu zaburzeń oddychania u noworodków preparatami egzogennymi. To właśnie ta Kanadyjska grupa klinicystów i naukowców po raz pierwszy podała syntetyczny preparat difosfatydylocholiny w postaci aerozolu grupie 11 noworodków przedwcześnie urodzonych z rozpoznaną niewydolnością oddechową (Robillard i wsp. 1964). Następnie, zespoły z uniwersytetów Kalifornia w San Francisco i w Singapurze próbowały powtórzyć tę drogę podania fosfolipidów, jednak bez pozytywnych efektów klinicznych (Chu i wsp. 1965). Należy tutaj jednak wspomnieć o badaniu Morley i wsp. z 1961, które wykazało skuteczność

leczenia zespołu błon szklistych wykorzystując liofilizat dipalmitoylu lecytyny oraz fosfatydyloglicerolu w postaci wziewnej (Morley i wsp. 1961). Niemniej jednak skuteczność tej terapii była dużo niższa w porównaniu z wprowadzonymi później preparatami odzwierzęcymi i syntetycznymi podawanymi drogą dotchawiczą w postaci płynu i dlatego nie została dalej rozwijana.

Brak efektywności preparatów surfaktantowych w leczeniu zespołu błon szklistych wstrzymał rozwój nowych metod leczenia z wykorzystaniem fosfolipidów na okres ponad 10. lat. W tym czasie nastąpił rozwój nowych, skuteczniejszych i mniej inwazyjnych technik wspomagania oddechu. W 1971 roku Gregory opisał metodę leczenia niewydolności oddechowej u noworodków przedwcześnie urodzonych przy pomocy dostarczania ciągłego dodatniego ciśnienia do dróg oddechowych zwanego powszechnie CPAP (Gregory i wsp. 1971), natomiast rok później Kirby i wsp. wprowadził metodę mechanicznej wentylacji o stałym przepływie w leczeniu noworodków (Kirby i wsp. 1972).

Ostatecznie terapia egzogennymi preparatami surfaktantu została oparta na metodzie opisanej przez Fujiwara i wsp. w 1980 roku (Fujiwara i wsp. 1980) gdzie egzogenny surfaktant podawany był przez rurkę intubacyjną bezpośrednio do tchawicy w postaci płynu, co stanowi standard postępowania klinicznego do dnia dzisiejszego. W Polsce pierwszymi preparatami surfaktantowym testowanymi w badaniach klinicznych były surfaktanty pochodzenia wołowego i świńskiego. Surfaktant SF-RI znany jako Alveofakt® (Boehringer Ingelheim, GmbH, Ingelheim, Germany) preparat wołowy był podawany noworodkom przedwcześnie urodzonym z objawami niewydolności oddechowej (Szczapa i wsp. 1992). Równolegle prowadzone były badania nad innym preparatem pochodzenia odzwierzęcego poraktant alfa, który stosowany jest do dziś jako Curosurf® (Chiesi Farmaceutici, SpA, Parma, Italy) (Szymankiewicz i wsp. 1993).

Należy tutaj wspomnieć, że oba preparaty testowane były w ośrodku Poznańskim, który dzięki prężnej działalności Pani Profesor Ireny Twarowskiej już w latach 90. stał się wiodącym ośrodkiem opieki nad noworodkiem w Polsce. Dobrze zorganizowana opieka nad ciężarną i noworodkiem przedwcześnie urodzonym w Poznaniu oraz wyposażenie oddziału intensywnej terapii pozwoliły oddziałowi noworodkowemu Akademii Medycznej uczestniczyć w największych europejskich badaniach klinicznych III fazy, które doprowadziły do rejestracji preparatu Curosurf na terenie Europy i USA (Halliday i wsp. 1993).

Na podstawie tego krótkiego rysu historycznego widać wyraźnie, że leczenie ZZO u noworodków od początku opierało się zarówno na osiągnięciach w dziedzinie biochemii i farmakoterapii jak i mechaniki oddychania. Warto jednak pamiętać, że stosowanie egzogennych preparatów fosfolipidów w leczeniu zaburzeń oddychania u noworodków zapoczątkowane było poprzez podawanie ich w formie wziewnej już 50. lat temu.

1.3 Stosowanie egzogennych surfaktantów

Badania na zwierzętach pokazały, że dystrybucja egzogennych surfaktantów w płucach nie ma jednolitego charakteru, co może powodować gorsze wyniki lecznicze (van der Bleek i wsp. 1993). Te badania udowodniły, że surfaktanty podane szybko oraz w większej objętości wraz z zastosowaniem dodatniego ciśnienia końcowowydechowego (*positive end-expiratory pressure*)(PEEP) zapewniły lepszą dystrybucję leku w płucach niż podawanie preparatów w małej objętości czy aplikowanie ich w dłuższych interwałach czasowych (Hilgendorff i wsp. 2006, Merritt i wsp. 1995, Thomson 2002). Mimo wszystko należy pamiętać, że dotchawicze podawanie egzogennych surfaktantów zwłaszcza o większej objętości może prowadzić do okresowej hipoksji i hiperkapnii, a także niekorzystnych zmian przepływów krwi w naczyniach mózgowych (Cowan i wsp. 1991).

Badania kliniczne pokazały, że dotchawicze podanie surfaktantu może wpływać na zmiany przepływu krwi w naczyniach mózgowych, co może być również zależne od rodzaju stosowanego preparatu i metody jego podania. Murdoch i wsp. zaobserwowali spadek przepływu krwi w tętnicy przedniej mózgu u noworodków z ZZO leczonych preparatem pochodzenia zwierzęcego, czego nie zauważyli u noworodków leczonych preparatem syntetycznym, palmitynianem kolfoscerylu (*colfosceril palmitate*, Exosurf[®], GlaxoSmithKline, Brentford, UK) (Murdoch i Kempley 1998). W innych badaniach odnotowano również większe zmiany przepływu krwi w naczyniach mózgowych, zwiększony indeks oporu oraz patologiczne zmiany w zapisie elektroencefalograficznym u noworodków leczonych preparatem pochodzenia zwierzęcego w porównaniu z noworodkami przyjmującymi preparat syntetyczny Exosurf (Hascoet i wsp. 1995). Oba badania wykazały, że spadek pCO₂ spowodowany podaniem

egzogennych surfaktantów był bardziej znamienny i trwał dłużej w przypadku zastosowania preparatów pochodzenia zwierzęcego, co mogło mieć odzwierciedlenie w zmianach przepływów mózgowych. Z kolei Kaiser i wsp. badali bezpośredni efekt okluzji dróg oddechowych przy podaniu płynnych surfaktantów do tchawicy. Ustalili, że noworodki z ekstremalnie małą i bardzo małą masą ciała (wynoszącą od 501 g do 1500 g), leczone preparatem beraktant (Survanta[®], Abbott Laboratories, Inc., Abbott Park, IL) w dawce 4,8 mL/kg, wykazały zwiększone przepływy w naczyniach mózgowych w ciągu 14,4 min po podaniu leku w porównaniu z noworodkami przyjmującymi preparat poraktant alfa (2,5 mL/kg) oraz że ten wzrost przepływów łączył się ze znacznym wzrostem pCO₂, który stanowił bezpośrednie następstwo dotchawiczego podania płynu i okluzji tchawicy. Autorzy badania wiązali obserwację wyższych wartości pCO₂ u noworodków z zastosowaniem preparatu o większej objętości (Kaiser i wsp. 2004). Innym niepożądanym działaniem, które zostało przypisane podawaniu egzogennych surfaktantów, jest krwotok płucny. Meta-analiza opublikowana przez Raju i wsp. wykazała wyższe ryzyko krwotoku płucnego u noworodków leczonych egzogennymi preparatami surfaktantów bez względu na rodzaj zastosowanego surfaktantu w porównaniu z noworodkami, którym nie podano takiego środka leczniczego (Raju i Langenberg 1993).

Oprócz doniesień opartych na małych grupach badanych, randomizowane badania wieloośrodkowe pokazały również występowanie działań niepożądanych bez względu na rodzaj zastosowanego surfaktantu oraz przyjętą metodę jego podania. Działania niepożądane obejmują: okresową błądź powłok skórnych, spadki saturacji, przerwę w dawkowaniu, okluzję rurki intubacyjnej, refluks w rurce intubacyjnej (Moya i wsp. 2005, Sinha i wsp. 2005) oraz potrzebę ponownej intubacji (Bloom i wsp. 1997).

Dotchawicze podawanie surfaktantów stanowi jedyną zatwierdzoną metodę ich stosowania. Należy jednak pamiętać, że intubacja sama w sobie może okazać się bardzo traumatycznym zabiegiem i wiąże się z takimi działaniami niepożądanymi jak bradykardia, zmiany ciśnienia krwi, hipoksja, wzrost ciśnienia śródczaszkowego (Kelly i Finer 1984, Marshall i wsp. 1984). Nieprawidłowe umiejscowienie rurki intubacyjnej, prowadzące do intubacji jednego oskrzela czy nawet perforacji tchawicy, należy do poważnych działań niepożądanych związanych z intubacją przedwcześnie urodzonych noworodków (Newman i Oh 1994). Poza tym nauka intubacji jest procesem czasochłonnym i bywa, że młodym lekarzom nie zapewnia się optymalnej edukacji w zakresie intubacji noworodka z małą masą ciała (Leone i wsp. 2005).

Zarówno działania niepożądane towarzyszące dotchawiczemu podaniu surfaktantów, jak i tendencja do stosowania nieinwazyjnych metod wentylacji w leczeniu ZZO doprowadziły do powstania rozbieżności między zaleceniami klinicznymi a rutynowym postępowaniem terapeutycznym. Horbar i wsp. w latach 1998–2000 przeprowadzili badania na populacji noworodków urodzonych przedwcześnie, tj. w wieku od 23 tc. do 29 tc. Pokazali oni, że nie wszystkie noworodki zaintubowane na sali porodowej otrzymują surfaktant i tylko 36% z nich podlega profilaktyce ZZO z wczesnym podaniem surfaktantu zaraz po urodzeniu (Horbar i wsp. 2004). Tę tendencję widać wyraźnie, kiedy porówna się wyniki zgromadzone w bazie danych Vermont Oxford Network (VON). Dane z bazy VON zarówno z roku 2003, jak i 2005 pokazują, że znaczna liczba noworodków poniżej 32 tc. otrzymuje pierwszą dawkę surfaktantu po skończeniu drugiej godziny życia (2003-VON, 2005-VON). Takie postępowanie kliniczne stoi w sprzeczności z opublikowaną w bibliotece Cochrane meta-analizą porównawczą wczesnego i późnego podawania surfaktantów egzogennych w leczeniu ZZO. Jej wyniki jednoznacznie wykazały zmniejszenie ryzyka wystąpienia odmy opłucnowej, rozedmy śródmiąższowej płuc

czy nawet dysplazji oskrzelowo-płucnej (*bronchopulmonary dysplasia*, BPD) u noworodków leczonych surfaktantem w ciągu pierwszych dwóch godzin życia (Yost i Soll 2000, Yost i Soll 2002). Jednak mimo tych wyników nie u wszystkich noworodków z bardzo małą i ekstremalnie małą masą ciała stosuje się wczesną podaż surfaktantów w leczeniu ZZO (Horbar i wsp. 2004).

W świetle wspomnianych powyżej faktów, nieinwazyjne metody podawania surfaktantów bez konieczności intubacji i stosowania inwazyjnych metod wentylacji stanowią bardzo atrakcyjną formę terapii. Kilka grup badawczych próbowało podania surfaktantów noworodkom spontanicznie oddychającym, u których nie zachodziła konieczność intubacji, z wykorzystaniem cewnika umieszczonego w okolicy nagłośni (Kattwinkel i wsp. 2004) czy u noworodków wentylowanych z wykorzystaniem maski laryngologicznej (Trevisanuto i wsp. 2005), lub umieszczając w tchawicy cewnik poniżej strun głosowych przez który podaje się surfaktant (Kribs i wsp. 2010). Inną półinwazyjną metodę podawania egzogennych surfaktantów określa się jako „Intubacja, Surfactant i Ekstubacja” do CPAP (InSurE) (Reininger i wsp. 2005, Rojas i wsp. 2009, Verder i wsp. 1999, Verder i wsp. 1994). Jednak najbardziej atrakcyjną metodą podawania egzogennych surfaktantów wydaje się terapia wziewna surfaktantami w postaci aerozoli (Mazela i wsp. 2007).

1.4 CPAP donosowy z wczesną administracją surfaktantu

Badania retrospektywne pokazały, że CPAP donosowy jako metoda wentylacji z wyboru, zastosowany do leczenia niewydolności oddechowej u noworodków, spowodował skrócenie czasu leczenia oddechem wspomaganym w porównaniu z intubacją z wyboru i mechaniczną wentylacją (De Klerk i De Klerk 2001, Narendran i wsp. 2003). Pierwsze prospektywne badania

kliniczne dotyczące profilaktyki ZZO przy pomocy egzogenego surfaktantu metodą InSurE również wykazały wyższość tej metody nad tradycyjnym leczeniem z zastosowaniem długotrwałej mechanicznej wentylacji (Verder i wsp. 1999, Verder i wsp. 1994). Trudno jednak o obiektywną ocenę tych badań klinicznych, gdyż przeprowadzono je, nim zaczęła się era stosowania prenatalnych kortykosterydów w celu przyspieszenia syntezy endogenego surfaktantu. W ciągu ostatnich lat przeprowadzono kilka małych badań klinicznych oceniających skuteczność leczenia ZZO przy pomocy InSurE. Dani i wsp. przebadali noworodki poniżej 30 tc., leczone po urodzeniu przy pomocy CPAP donosowego. Wszystkie noworodki włączone do badań otrzymały dotchawiczo preparat Curosurf w ciągu pierwszych 6 godzin życia oraz podlegały mechanicznej wentylacji przez względnie krótki czas (5 min), a następnie były albo ekstubowane do CPAP donosowego (grupa InSurE), albo pozostawione zaintubowane i leczone tradycyjnie, przy pomocy mechanicznej wentylacji (grupa MW). Wyniki pokazały, że noworodki z grupy InSurE wymagały krótszego leczenia przy pomocy MW ($P < 0,0001$), krótszej suplementacji tlenem ($P = 0,03$), mniejszej liczby przypominających dawek egzogenego surfaktantu ($P = 0,006$) i krótszej hospitalizacji w oddziale intensywnej opieki medycznej (OIOM; $P = 0,03$) w porównaniu z noworodkami z grupy MW (Dani i wsp. 2004). Reininger i wsp. przeprowadzili badania nad noworodkami pomiędzy 29 tc. a 35 tc., leczonymi przy pomocy preparatu Survanta z użyciem CPAP donosowego lub MW. Uzyskano statystycznie krótszy okres leczenia przy pomocy MW ($P = 0,04$), mniejsze zapotrzebowanie na przypominające dawki surfaktantu ($P = 0,001$) oraz niższe stężenia tlenu (FiO_2) w ciągu pięciu godzin po podaniu surfaktantu ($P < 0,01$) w grupie noworodków leczonych przy pomocy CPAP w porównaniu z noworodkami poddanymi tradycyjnej MW (Reininger i wsp. 2005). Stevens i wsp. opracowali jedyną przeglądową meta-analizę oceniającą skuteczność stosowania

kombinacji egzogenego surfaktantu z CPAP donosowym. Tylko cztery badania kliniczne spełniły kryteria i zostały zawarte w tej meta-analizie. Trzy z nich zostały zakończone wcześniej, przed uzyskaniem planowanej liczby pacjentów. Wszystkie badania wykazały skrócenie czasu mechanicznej wentylacji w grupie noworodków leczonych przy pomocy wczesnej podaży surfaktantu z CPAP donosowym, niemniej w żadnym studium nie zmniejszyło się występowanie BPD. Z tego powodu autorzy zalecili przeprowadzenie prospektywnych badań klinicznych w celu uzyskania właściwej oceny skuteczności tej metody leczniczej (Stevens i wsp. 2004).

Być może brak zmniejszenia występowania BPD jest spowodowany faktem, że InSurE nie jest nieinwazyjną metodą podawania surfaktantów. Mimo wszystko noworodek wymaga okresowej mechanicznej wentylacji po okluzji dróg oddechowych płynnym surfaktantem, a okres stosowania dodatniego szczytowego ciśnienia w drogach oddechowych nie jest ściśle określony natomiast objętość oddechu nie zawsze jest dokładnie monitorowana, co może prowadzić do mikrourazów objętościowych wzbudzając tym kaskadę prozapalną (Jobe 1998). W świetle tych doniesień i potrzeby zmniejszenia inwazyjności leczenia noworodków urodzonych przedwcześnie aerzoloterapia z zastosowaniem surfaktantów jawi się jako bardzo atrakcyjna metoda leczenia ZZO.

InSurE pozostanie w najbliższym czasie chętnie stosowaną metodą podawania surfaktantów jako, że niedawno opublikowana retrospektywna analiza stosowania InSurE u noworodków poniżej 27 tc. pokazała, że ta metoda lecznicza jest bezpieczna i efektywna nawet w przypadku leczenia małych pacjentów (Booth i wsp. 2006) a wyniki prospektywnego i randomizowanego badania opublikowanego przez Rojas i wsp. wykazały jej efektywność (Rojas i wsp. 2009). Wydaje się jednak, że opóźnianie, czy zaniechanie podaży egzogenego surfaktantu u noworodków z objawami ZZO nie jest właściwe i może prowadzić do większego ryzyka

wystąpienia zespołu ucieczek powietrza co pokazały badania Morley i wsp. Ta obserwacja potwierdza dobrze udokumentowaną prawidłowość, że egzogeny surfaktant w leczeniu ZZO zmniejsza ryzyko wystąpienia urazu ciśnieniowego płuc (Morley i wsp. 2008).

1.5 Aeroszoloterapia w intensywnej terapii noworodka

Podawanie leków w postaci aerozoli zostało powszechnie uznane za efektywną formę terapii. Niemniej jednak rozwój urządzeń oraz leków przeznaczonych do nebulizacji noworodków i niemowląt mechanicznie wentylowanych stanowi nadal wyzwanie dla klinicystów i zespołów badawczych. Mała pojemność życiowa, wysoka częstość oddechów, krótki czas wdechu oraz mała średnica dróg oddechowych noworodków powodują, że czas pozostawiania aerozoli w dolnych drogach oddechowych w tej populacji pacjentów jest bardzo ograniczony (Cole 2000, Fok i wsp. 1996, Grigg i wsp. 1992). W związku z ograniczeniami etycznymi związanymi ze stosowaniem znaczników radiologicznych u dzieci, liczba badań klinicznych nad depozycją aerozoli w drogach oddechowych (dawka leku pozostająca w płucach) jest bardzo znikoma (Everard 2003). Mimo tych technicznych ograniczeń i braku wyników badań wielośrodkowych aerozole są stosowane w oddziałach intensywnej terapii nad noworodkiem na całym świecie bez optymalnych nebulizatorów i systemów dostarczania aerozoli, bez poznania charakterystyki depozycji aerozoli w drogach oddechowych noworodków mechanicznie wentylowanych oraz bez znajomości zależności między dawką emitowaną z nebulizatora a depozycją płucną dla poszczególnych środków farmakologicznych.

Różne leki wziewne są podawane noworodkom i niemowlętom sztucznie wentylowanym jako część standardowej opieki medycznej (Ballard i wsp. 2002). Do tej pory urządzenia do

nebulizacji noworodków sztucznie wentylowanych były zatwierdzane w oparciu o dane zebrane w badaniach przeprowadzonych na dorosłych pacjentach bądź w oparciu o badania symulacyjne *in vitro*. We wrześniu 2007 roku Kongres Stanów Zjednoczonych zatwierdził dokument zwany: “Title III of the FDA Amendments Act, The Pediatric Medical Device Safety and Improvement Act”, który wymusza przeprowadzanie badań klinicznych na docelowej populacji pediatrycznej w przypadku rejestracji urządzenia w ramach procesu regulacyjnego Agencji d/s Żywności i Leków (FDA) (2007 - FDA). To rozporządzenie zainicjowało proces rozwoju nebulizatorów i systemów dostarczania leków stosowanych u dzieci w tym szczególnie noworodków ponieważ do tej pory żadne z urządzeń nie zostało zatwierdzone przez agencje regulacyjne do stosowania u noworodków mechanicznie wentylowanych (Mazela i wsp. 2007, Wolfson i wsp. 2008).

Przeprowadzono ponad 20. badań klinicznych oraz systematycznych analiz przeglądowych dotyczących stosowania różnych leków wziewnych (kortykosterydów, leków rozkurczających oskrzela, leków moczopędnych) u noworodków mechanicznie wentylowanych. Jednak większość z tych doniesień nie wykazała skuteczności inhalacji w tej grupie pacjentów (Mazela i Polin 2011). Shah i wsp. opublikowali w bibliotece Cochrane’a systematyczny przegląd stosowania wczesnych inhalacji kortykosterydami w profilaktyce dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD) u noworodków z bardzo małą masą ciała. Ta meta-analiza oparta na siedmiu wielośrodkowych, randomizowanych badaniach klinicznych nie wykazała trwałej skuteczności stosowania wziewnych kortykosteroidów w profilaktyce BPD (Shah i wsp. 2007).

Innym wziewnym środkiem leczniczym testowanym w badaniach klinicznych u noworodków w leczeniu i profilaktyce BPD były diuretyki. Ostatnio opublikowana meta-analiza w bibliotece Cochrane’a dotycząca stosowania inhalacji furosemidem pokazała, że podanie pojedynczej dawki wziewnej leku poprawiło parametry mechaniki oddychania. Jednakże z powodu braku

danych dotyczących poprawy ogólnego stanu klinicznego przedwcześnie urodzonych noworodków stosowanie wziewnych diuretyków w przebiegu BPD nie jest zalecane (Brion i wsp. 2006).

Biblioteka Cochrane'a zawiera również analizę porównawczą dotyczącą stosowania wziewnych leków rozkurczających oskrzela w profilaktyce i leczeniu BPD. Analiza zawiera tylko jedno badanie kliniczne, którego punktem końcowym oceny było występowanie BPD. To podwójnie zaślepienie, randomizowane, wielośrodkowe badanie kliniczne porównało zastosowanie samego beklometazonu z kombinacją beklometazonu i salbutamolu w profilaktyce i leczeniu BPD. Badanie nie wykazało żadnych różnic pomiędzy grupami badanymi w zakresie występowania BPD, śmiertelności, częstości zakażeń dróg oddechowych, czy wyników posiewów bakteriologicznych oraz nie wykazało żadnych różnic w długości mechanicznej wentylacji i tlenoterapii (Ng i daSilva 2006).

Istnieją również pojedyncze opisy przypadków oraz dwa pilotażowe badania kliniczne fazy I/II skupiające się na podawaniu wziewnej prostacykliny (PGI₂) noworodkom z objawami przetrwałego nadciśnienia płucnego (PPHN) (Bindl i wsp. 1994, Kelly i wsp. 2002, Sood i wsp. 2004) oraz niemowlętom z wrodzonymi wadami serca z objawami nadciśnienia płucnego (Carroll i wsp. 2005). Badania wykazały poprawę utlenowania krwi pacjentów w następstwie zmniejszenia przecieku wewnątrzpłucnego po podaniu wziewnej PGI₂. Te obiecujące wstępne obserwacje należałoby potwierdzić w dużych badaniach klinicznych z grupą kontrolną.

Reasumując, powyżej zacytowane wyniki wielośrodkowych, randomizowanych badań klinicznych, nie wykazały skuteczności żadnej terapii wziewnej w leczeniu noworodków przedwcześnie urodzonych. Należy jednak zwrócić uwagę, że brak klinicznej odpowiedzi może

nie być związany z brakiem skuteczności testowanych preparatów farmakologicznych ale może wynikać z niedoskonałości nebulizatorów i systemów dostarczania aerozoli do płuc przedwcześnie urodzonych noworodków mechanicznie wentylowanych. Zarówno pojedyncze doniesienia kliniczne oparte na małej liczbie pacjentów wspomniane powyżej jak i badania na zwierzętach wykazują skuteczność niektórych środków wziewnych takich jak wziewne surfaktanty czy sterydy (Honda i wsp. 2009, Wolfson i wsp. 2008) a przez to stymulują do przeprowadzenia odpowiednio zaplanowanych klinicznych kontrolnych badań wielośrodkowych. Jednak te badania muszą być oparte na wykorzystaniu nebulizatorów oraz systemów dostarczania aerozoli, które będą współpracować z urządzeniami zapewniającymi odpowiednią wentylację płuc.

1.6 Podawanie wziewnych surfaktantów w leczeniu ZZO

Mimo rozczarowujących wyników badań klinicznych nad różnymi aerozolami stosowanymi u noworodków mechanicznie wentylowanych podjęto również próby podawania surfaktantów w postaci aerozoli. Wziewny surfaktant po raz pierwszy wykorzystano w leczeniu noworodków ponad 40 lat temu. Robillard i wsp. podali prekursor syntetycznego surfaktantu dipalmitolfosfatydylocholinę (DPPC) w postaci aerozolu bezpośrednio do inkubatora w leczeniu ZZO. W tym niekontrolowanym badaniu klinicznym stwierdzono zmniejszenie wysiłku oddechowego u 8 z 11 noworodków (Robillard i wsp. 1964). W badaniach nad tym samym lekiem w tej samej formie naukowcy z University of California w San Francisco i Uniwersytetu w Singapurze nie byli w stanie powtórzyć tych wyników klinicznych i zademonstrować fizjologicznej odpowiedzi na wziewną fosfatydylocholinę (Chu i wsp. 1965). Inne badania, które wykorzystywały wziewną dipalmitoilolecynę w leczeniu ZZO, również nie wykazały

skuteczności terapii i doprowadziły do zaniechania badań nad wziewnymi surfaktantami na kilkadziesiąt lat (Ivey i wsp. 1977, Shannon i Bunnell 1976). Dopiero w latach 90. ubiegłego wieku, po zatwierdzeniu przez FDA modyfikowanych odzwierzęcych i syntetycznych surfaktantów, naukowcy i klinicyści znowu sięgnęli po wziewne preparaty surfaktantu w leczeniu ZZO, aby ograniczyć inwazyjność mechanicznej wentylacji i spróbować dostarczyć surfaktant do płuc bez dotchawiczej intubacji. Pierwsze badanie zostało przeprowadzone w 1997 r. i miało na celu ocenę wziewnego surfaktantu w połączeniu z CPAP. W tym pilotażowym studium klinicznym wykorzystano wziewną formę SF-RI (Alveofakt) w połączeniu z CPAP dostarczonym za pomocą rurki nosowo-gardłowej (Jorch i wsp. 1997). Leczenie okazało się bezpieczne, nie zanotowano żadnych działań niepożądanych, zaobserwowano również poprawę stanu klinicznego: wzrost prężności tlenu oraz korzystniejsze wyniki w klinicznej skali Silvermanna po rozpoczęciu nebulizacji w porównaniu z noworodkami leczonymi tylko przy pomocy CPAP. Rok później Arroe i wsp. przeprowadzili badanie nad wziewnym preparatem Exosurf, dostarczonym przy pomocy donosowego CPAP noworodkom przedwcześnie urodzonym z objawami niewydolności oddechowej. Autorzy badania nie zanotowali żadnych zdarzeń niepożądanych związanych z leczeniem ani żadnej poprawy stanu klinicznego po nebulizacji (Arroe i wsp. 1998). Berggren i wsp. włączyli do badań 34 noworodki (między 28 tc. a 33 tc., z masą ciała wynoszącą od 1015 g do 2370 g) z rozpoznaniem ZZO, które poddali leczeniu CPAP i wziewnym preparatem Curosurf. Również to badanie nie wykazało klinicznej skuteczności inhalacji surfaktantem ani żadnej poprawy klinicznej u noworodków poddanych inhalacjom w porównaniu z grupą leczoną samym CPAP (Berggren i wsp. 2000). Ostatnie badanie kliniczne nad wziewnym surfaktantem przeprowadził Finer i wsp., które stanowi element tej rozprawy i będzie omówione poniżej (Finer i wsp. 2010). Dokładna analiza tych prób

klinicznych jednoznacznie pokazuje, że brak optymalnego nebulizatora i systemu podawania aerozoli noworodkom mechanicznie wentylowanym, oraz brak ujednoczonego systemu obliczania dawki wdechowej mogły sprawić, że podanie wziewnych surfaktantów nie przyniosło efektów leczniczych (Mazela i wsp. 2007).

1.7 Lucinaktant (Surfaxin)

Surfaxin[®], KL4 surfaktant (Discovery Laboratories, Inc., Warrington, PA) zawiera trzy główne składniki fosfolipidowe: difosfatydylocholinę, fosfatydyloglicerol oraz kwas palmitynowy. Jego składnik białkowy stanowi peptyd składający się z 21. aminokwasów i przypomina swoją funkcją białko surfaktantowe typu B (Cochrane i Revak 1991). Zastosowanie w przedstawionych poniżej pracach syntetycznego preparatu Surfaxin wynika z własnych doświadczeń w stosowaniu tego preparatu we wcześniej opublikowanych badaniach, oceniających skuteczność tego syntetycznego preparatu w profilaktyce ZZO u noworodków (Moya i wsp. 2007). Syntetyczny charakter preparatu Surfaxin umożliwia jego skuteczną aerolizację bez ujemnego wpływu na jego biofizyczną aktywność (Johnson i wsp. 2007). Preparat ten stanowi obiecującą formę profilaktyki i leczenia ZZO oraz innych chorób płuc ze względu na swoje dodatkowe właściwości oporności na stres oksydacyjny oraz wykazaną w badaniach *in vitro* (Zhu i wsp. 2008) i *in vivo* (Kinniry i wsp. 2006) modulację odpowiedzi przeciwzapalnej zarówno w formie płynnej jak i aerolowej (Wolfson i wsp. 2008/2). Poza tym brak ryzyka przenoszenia chorób odzwierzęcych jak i brak ryzyka wywołania reakcji uczuleniowych w związku z brakiem w jego składzie pełnych białek surfaktantowych umożliwia potencjalnie jego stosowanie w postaci

wziewnej w takich jednostkach chorobowych jak ARDS (Thomas i wsp. 2011) czy mukowiscydoza (Donaldson i wsp. 2011).

Czynnikiem, który miał największe znaczenie w podjęciu decyzji o wybraniu inhalacyjnej, nieinwazyjnej metody podawania surfaktantów był obserwowany trend opóźnionego podawania egzogennych surfaktantów już w połowie lat 2000 (Horbar i wsp. 2004) wynikający z chęci uniknięcia dotchawiczej intubacji i stosowania mechanicznej wentylacji. W związku z tym dorobek naukowy, który składa się na powyżej przedstawioną analizę podawania surfaktantu egzogenego w postaci wziewnej powinien spełniać praktyczne oczekiwania klinicystów i badaczy.

2. Cele

Zebrany dorobek naukowy dotyczy badań, które prowadzono w ramach współpracy z różnymi zespołami naukowymi w celu bliższego zrozumienia aspektów stosowania egzogennych surfaktantów w postaci płynnej i aerozolowej. Głównym celem było uzyskanie odpowiedzi na pytanie czy istnieje skuteczna metoda podaży wziewnego surfaktantu noworodkowi wymagającemu wsparcia oddechowego. Ponieważ po przeprowadzeniu analizy literatury okazało się, że nie ma skutecznej metody podawania aerozoli w tej populacji, postanowiono zaprojektować i przetestować system umożliwiający podawanie aerozoli noworodkom wymagającym wsparcia oddechowego.

Szczegółowymi celami pracy było:

1. Porównanie profilu skuteczności i bezpieczeństwa syntetycznego preparatu surfaktantu w porównaniu z powszechnie stosowanym preparatem odzwierzęcym,
2. Zaprojektowanie i opatentowanie systemu dostarczania aerozoli,
3. Przeprowadzenie pilotażowego badania II fazy A z wykorzystaniem wziewnego surfaktantu,
4. Opracowanie charakterystyki skuteczności podawania wziewnych leków w populacji noworodków wymagających wsparcia oddechowego oraz określenie metody obliczenia dawki wziewnej leku inhalowanego.

3. Wyniki

3.1 Wyniki i wnioski pracy nr 1

W pracy badano dystrybucję płucną dwóch różnych preparatów surfaktantowych oraz wpływ niedrożności (okluzji) dróg oddechowych w następstwie podania płynnych surfaktantów na stan zwierząt. Przed przystąpieniem do badania uzyskano zgodę odpowiedniej komisji bioetycznej. Badanie przeprowadzono wykorzystując już dobrze poznany model zwierzęcy oparty na przedwcześnie urodzonym płodzie owczym w 124-126 dniu życia płodowego. Do badania włączono 12 zwierząt; 6 otrzymało preparat surfaktantu pochodzenia zwierzęcego Curosurf (2,5 mL/kg lub 200mg/kg), pozostałe 6 otrzymało syntetyczny preparat Surfaxin (5,8 mL/kg lub 175 mg/kg). Zwierzęta były wentylowane zgodnie z wytycznymi klinicznymi obowiązującymi podczas wentylacji noworodków wcześniaków z zachowaną pojemnością życiową na poziomie 4.5 mL/kg. Zwierzęta były monitorowane przez okres 180 minut od momentu podania preparatów surfaktantu. Podczas eksperymentu monitorowano czynność serca, saturację, ciśnienie krwi, podatność płuc. W celu określenia dystrybucji leku w płucach preparaty surfaktantów zostały zmieszane ze znakowanymi mikrogranulkami o wielkości 1-2 μm a po zakończeniu każdego z eksperymentów od zmarłych zwierząt standardowo pobrano 72 próbki płuc. Przepływy mózgowo oraz saturacja tkankowa były mierzone przy pomocy laserowego czujnika dopplerowskiego a wyniki przedstawiono jako różnica procentowa wartości zapisu podstawowego, przed podaniem leków.

U wszystkich zwierząt w następstwie przedwczesnego porodu wywołano kwasicę metaboliczną i niewydolność oddechową w obrazie klinicznym ZZO. Po podaniu surfaktantów uzyskano poprawę stanu klinicznego, obniżenie prężności dwutlenku węgla oraz podwyższenie poziomów

prężności tlenu w obu badanych grupach zwierząt. W ciągu 75 minut od podania surfaktantów uzyskano poprawę parametrów oddechowych (pojemność życiowa i podatność płuc) a w 90. minucie podatność dynamiczna płuc osiągnęła najwyższe wartości na poziomie 200% średniej wartości sprzed podania leków. Wartości średniego ciśnienia krwi krótko po podaniu surfaktantów wzrosły w grupie otrzymującej Surfaxin natomiast spadły w grupie otrzymującej Curosurf. Jednakże ta zmiana ciśnienia krwi nie wpłynęła w żaden sposób na przepływy krwi w naczyniach mózgowych. Podanie Curosurfu spowodowało przejściowe zwiększenie wartości prężności tlenu w tkankach mózgu osiągając statystycznie znamienne różnice w porównaniu z grupą otrzymującą Surfaxin przez okres 2. minut. Dystrybucję leków w płucach określono w oparciu o 72 próbki płuc pobranych od każdego zwierzęcia po zakończeniu eksperymentu. Stwierdzono mniejszą obecność Surfaxinu w dolnych segmentach obu płuc w porównaniu z górnymi segmentami ($p=0.01$), oraz mniejszą ilość Curosurfu zarówno w górnych jak i dolnych segmentach płuc w porównaniu ze środkowymi segmentami ($p=0.001$). Dlatego też krzywa Gaussa dla preparatu Curosurf jest szersza co oznacza większy rozrzut dystrybucji leku i mniej homogeną dystrybucję.

Żaden z badanych egzogennych surfaktantów nie spowodował widocznych i znamienych działań ubocznych mimo różnego pochodzenia i składu chemicznego i ponad dwukrotnej różnicy w objętości. Preparat surfaktantu o większej objętości spowodował bardziej homogeną dystrybucję leku w płucach co może wpływać na korzystniejsze efekty długoterminowe, np. lepszy rozwój płuc czy mniejsze ryzyko występowania BPD. Jednak te hipotetyczne korzyści kliniczne musiałyby zostać udowodnione w prospektywnych badaniach klinicznych.

3.2 Wyniki i wnioski pracy nr 2

Praca jest pierwszą oryginalną publikacją zbiorczej analizy literatury dotyczącej stosowania surfaktantów w postaci aerozoli w profilaktyce ZZO. W pierwszej części publikacji przedstawiono analizę dotyczącą stosowania wczesnego CPAP donosowego w oparciu o największą bazę noworodkową Vermont-Oxford Network w latach 2003 i 2005. Wykazano odsetek noworodków, które nie są skutecznie leczone tą metoda i wymagają dotchawiczej intubacji i stosowania mechanicznej wentylacji. Z analizy wynika, że ponad 80% noworodków poniżej 27. tygodnia życia postkonceptyjnego jest nieskutecznie leczonych wczesnym CPAP, nieco ponad 50% noworodków jest nieskutecznie leczonych tą metodą między 27 a 29 tygodniem życia postkonceptyjnego i w końcu około 30% jest nieskutecznie leczonych w najbardziej dojrzałej grupie między 30 a 32 tygodniem życia postkonceptyjnego (skuteczność określona jako brak potrzeby intubacji). W związku z tym, że te noworodki nie były w ogóle intubowane w ciągu pierwszych godzin życia nie otrzymywały profilaktycznej lub wczesnej dawki surfaktantu, co stanowi wyraźne odejście od medycyny potwierdzonej dowodami (Soll 2000, Soll 2002, Stevens i wsp. 2004), gdzie wczesne leczenie egzogennymi surfaktantami wykazało największą skuteczność w leczeniu ZZO. Opracowanie zawiera również dokładną analizę porównawczą dotychczas przeprowadzonych badań z wykorzystaniem wziewnych preparatów surfaktantowych. Wynika z niej, że trudno jest ocenić skuteczność tej terapii, ponieważ żadne z badań nie miało grupy kontrolnej. Jedyna praca przeprowadzona przez Jorch i wsp. pozwala na określenie skuteczności terapii, ponieważ było to badanie typu „cross-over”. To badanie wykazało skuteczność terapii wziewnej surfaktantem w porównaniu z terapią samym CPAP donosowym prawdopodobnie dzięki zastosowaniu rurki nosowo-gardłowej, która

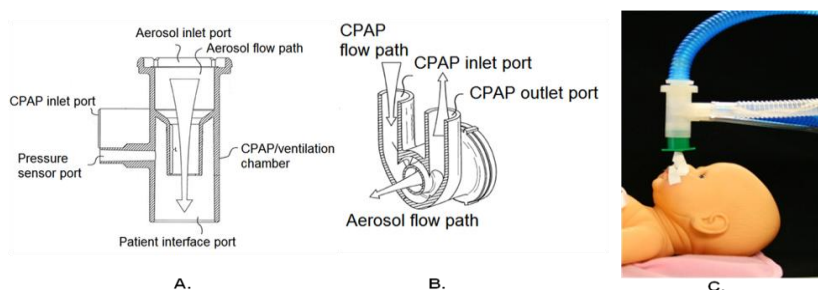
umożliwiła ominięcie jamy nosowej, czyli „filtra wdechowego”. Ten aspekt nigdy nie był dyskutowany w literaturze poświęconej aerozoloterapii czy leczeniu i profilaktyki ZZO.

Istnieje potencjalnie możliwość, że profilaktyczne podanie wziewnych surfaktantów wraz z CPAP donosowym może skutecznie zapobiec konieczności intubacji i stosowania mechanicznej wentylacji co z kolei może ograniczyć ryzyko występowania BPD. Poza tym aktywne surfaktanty w postaci aerozoli mogą być wykorzystywane jako nośniki dla innych leków wykorzystując ich właściwości dyspersji na granicy powietrze-woda (Marcinkowski i wsp. 2008). Przyszłe badania powinny być skierowane na opracowanie odpowiedniego systemu dostarczania aerozoli do pacjentów wymagających wsparcia oddechowego, który uwzględni takie aspekty jak lokalizację nebulizatora, stosowanie odpowiednich przepływów gazów, wielkość cząsteczek aerozolu i odpowiednie urządzenie kontaktu z pacjentem (maska, noski, rurka nosowo-gardłowa czy rurka intubacyjna).

3.3 Wyniki i wnioski pracy nr 3

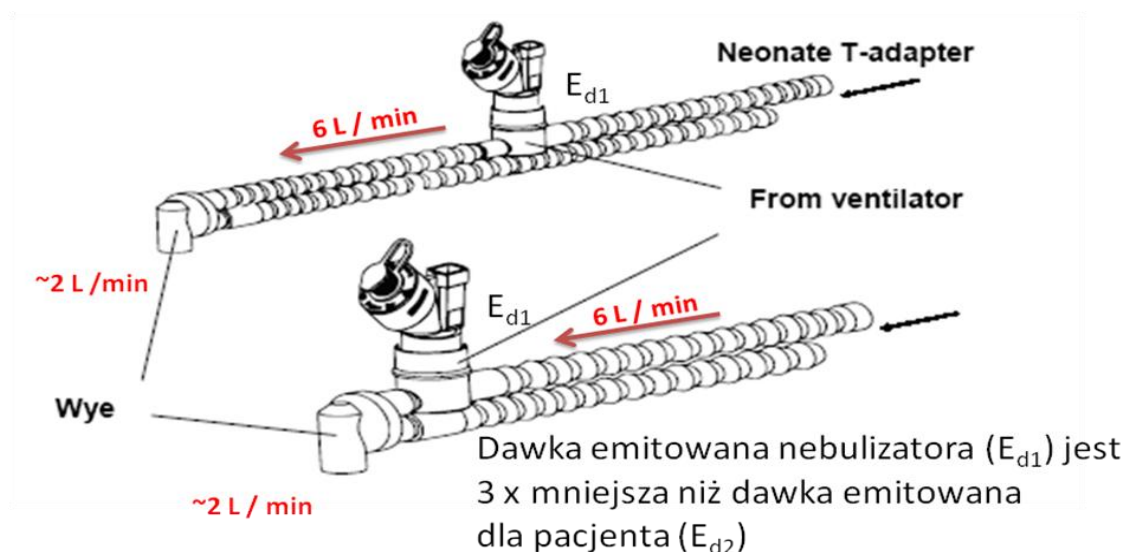
Jest to publikacja Światowej Organizacji Własności Intelektualnej (*World Intellectual Property Organization - WIPO*) patentu o nr WO 2009/117422 A2. Przed opublikowaniem patentu dokument został poddany procesowi recenzji zarówno pod względem merytorycznym jak i prawnym w celu wykluczenia możliwości plagiatu i nieprawidłowości w zakresie umieszczonych w nim zastrzeżeń (*claims*).

W pierwszej części dokumentu zawarto dokładny opis urządzenia, które stanowi specjalnie zaprojektowany łącznik typu „Y” umożliwiający jednoczesne dostarczanie odpowiednich ciśnień do dróg oddechowych pacjenta poddanego mechanicznej wentylacji jak i aerozolu leczniczego – Adapter 1. Bardzo ważną cechą tego urządzenia jest jego mała przestrzeń martwa, która nie zakłóca prawidłowej wentylacji płuc pacjenta. W dokumencie zawarto dokładne wymiary urządzenia oraz wartości krytyczne dla pewnych jego elementów takich jak długość „kanału aerozolu”. Poza tym zawarto również opis funkcjonowania urządzenia. Dzięki specjalnej geometrii Adapter rozdziela strumień aerozolu od strumienia powietrza dostarczanego od respiratora a zwanego „przepływem bazowym respiratora”, co zapewnia odpowiednie rozprężenie płuc nawet w czasie wydechu pacjenta (Rycina 1).



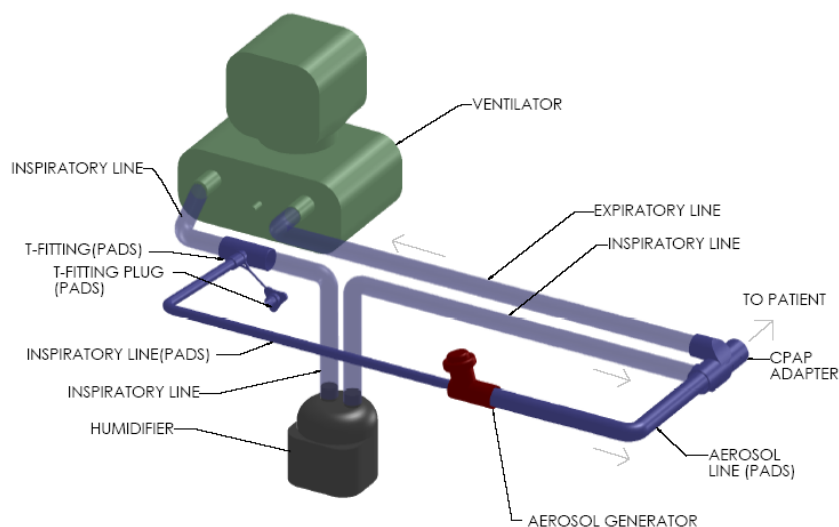
Rycina 1. A – Przekrój podłużny Adaptera 1 do podawania aerozoli; B – Przekrój poprzeczny adaptera do podawania aerozoli; C – Model w warunkach klinicznych

W drugiej części dokumentu zawarto opis systemu dostarczania aerozoli (*Proximal Aerosol Delivery System – PADS*) pacjentom mechanicznie wentylowanym. Pomysł stworzenia tego systemu zrodził się w oparciu o fakt, że standardowa metoda podawania aerozoli opiera się na umieszczeniu nebulizatora w ramieniu wdechowym rur respiratora. To powoduje, że aerozol ulega znacznemu rozcieńczeniu poprzez wysoki przepływ bazowy respiratora (6-12 L/min) i tylko część z niego, dostarczana jest do pacjenta podczas wdechu, którego wielkość zależy od przepływu wdechowego. U noworodków przepływ wdechowy wynosi od 1.3 do 3.2 L/min i zależy bezpośrednio od wielkości pacjenta (Bhutani i Sivieri 2003, Mazela i wsp. 2007) co powoduje, że najwyżej 25% środka leczniczego w postaci aerozolu dostarczana jest do pacjenta, natomiast 75% zostaje skierowana do ramienia wydechowego z pominięciem pacjenta. Poza tym wysokie przepływy bazowe respiratora mogą powodować dodatkowe znaczące straty aerozoli w rurach respiratora przed dotarciem do pacjenta w następstwie mechanizmu impakcji cząsteczek aerozoli (Mazela i Polin 2011) (Rycina 2).



Rycina 2. Schemat standardowego podawania aerozoli pacjentom wymagającym mechanicznej wentylacji (modyfikowano z: Mazela, J., and R. Polin. 2011. *Eur J Pediatr* 170: 433-444).

System PADS umożliwia dostarczenie aerozolu z pominięciem ramienia wdechowego respiratora dzięki temu można uniknąć rozcieńczenia aerozoli oraz ich impakcji poprzez wysoki bazowy przepływ respiratora (Rycina 3).



Rycina 3. Schemat systemu PADS do podawania aerozoli.

Przepływ gazu/powietrza, który jest „pożyczony” z ramienia wdechowego respiratora przed nawilżaczem jest równy przepływowi wdechowemu pacjenta aby do minimum zmniejszyć ryzyko nadmiernego rozcieńczenia aerozolu, tak aby pacjent wdychał optymalną ilość leku, oraz żeby zmniejszyć straty aerozolu, który nie uległby inhalacji tylko zostałby skierowany do ramienia wydechowego. „Pożyczony” gaz/powietrze jest oddane do obwodu oddechowego respiratora dzięki opisanemu powyżej Adapterowi 1 do podawania aerozoli, który umożliwia skierowanie leczniczego aerozolu do pacjenta bez jego rozcieńczenia jak to opisano powyżej.

W trzeciej części publikacji patentu zawarto wymagane przez WIPO wyniki zastosowania w praktyce, czyli tzw. *reduction to practice*. W tym celu przeprowadzono dwa badania przedstawione w dokumencie jako przykłady (*Examples*).

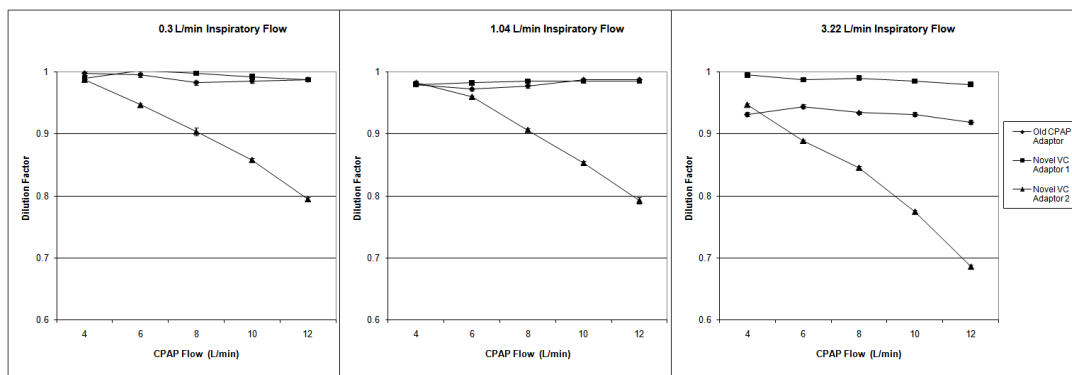
Pierwsze badanie polegało na wykazaniu, że Adapter 1 zapobiega mieszanii się aerozolu z bazowym przepływem respiratora. W tym celu użyto dwóch różnych gazów; tlenu jako nośnika aerozolu oraz powietrza jako bazowy przepływ respiratora. Do badania wykorzystano noworodkowy obwód respiratora oraz pediatryczny respirator typu Infant Star[®] (Infrasonics, Inc., San Diego, CA). W badaniu testowano pełen zakres stałych przepływów bazowych CPAP od 4 do 12 L/min., oraz trzy różne wartości przepływów wdechowych: 0.3; 1.04 i 3.22 L/min. Wykonano pięć pomiarów stężenia tlenu za rurką noso-gardłową przy pomocy oksymetru Datex Normocap 200 (Datex-Ohmeda, Helsinki, Finland) dla każdego warunków badanych. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią i błąd standardowy współczynnika rozcieńczenia zgodnie ze wzorem:

$$Y = (x - 21\%) / 79\%$$

x – stężenie tlenu

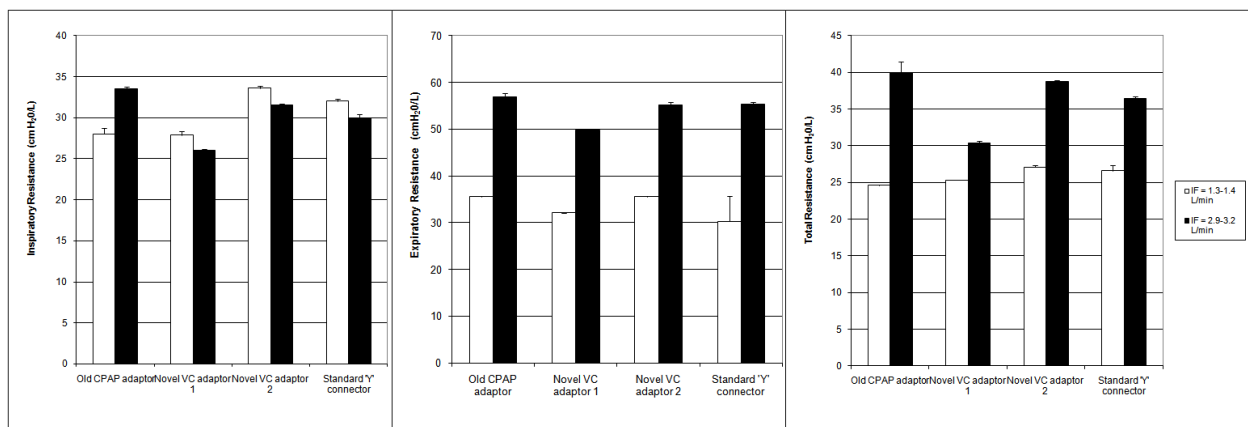
Y – współczynnik rozcieńczenia (wartość 1 oznacza nierozcieńczony gaz)

Badania rozcieńczenia gazów wykazały, że Adapter 1 zapobiega rozcieńczeniu gazu nośnikowemu aerozoli w szerokiej gamie warunków działania. Wyniki końcowe badania rozcieńczenia gazu przedstawia Rycina 4.



Rycina 4. Współczynnik rozcieńczenia gazu przy użyciu różnych modeli adapterów i różnych przepływów bazowych respiratora (średnia i błąd standardowy)

Drugie badanie miało na celu pokazanie profilu bezpieczeństwa urządzenia poprzez pomiar *in vitro* oporności wdechowej, wydechowej i całkowitej w odniesieniu do oporności standardowego łącznika „Y”. W tym celu wykorzystano noworodkowy repirator Infant Star (jak wyżej) oraz symulator płuc (Harvard Apparatus, Holliston, MA), który został ustawiony odpowiednio wg. parametrów mechaniki oddychania obserwowanych u noworodków ($T_v=12$ mL, I:E=1:1 and RR=30 odd/min, and $T_v=12$ mL, I:E=1:1 and RR=70 odd/min) aby uzyskać dwie różne wartości przepływu wdechowego: 1.3 – 1.4 L/min i 2.9 – 3.2 L/min. Pomiary oporności zostały dokonane przy pomocy manometru (PeDS-LAB, MAS, Hatfield, PA) i wartość średnią oparto o wartości liczbowe uzyskane z 10 kolejnych oddechów. Wyniki pokazały, że Adapter 1, który prezentował najkorzystniejszy profil efektywności w poprzednim badaniu, nie wykazał zwiększonej oporności w żadnych testowych warunkach (Ryc.5).



Rycina 5. Oporność wdechowa, wydechowa i całkowita przy różnych przepływach wdechowych (średnia i błąd standardowy)

Poza tym Adapter 1 jako jedyny nie prezentuje większej przestrzeni martwej niż tradycyjny łącznik „Y”, co umożliwia jego stosowanie we wszystkich metodach wspomaganego oddechu.

Adapter 1 może być wykorzystywany do podawania aerozoli noworodkom mechanicznie wentylowanym, zapewniając dostarczenie nierozcieńczonego aerozolu do rurki intubacyjnej, czy innego rodzaju łącznika z pacjentem. Jego użycie nie wpływa negatywnie na stosowanie wspomaganego oddechu.

3.4 Wyniki i wnioski pracy nr 4

Było to prospektywne, otwarte badanie randomizowane przeprowadzone na noworodkach przedwcześnie urodzonych w wieku 28-32. tygodnia postkonceptyjnego. Badanie uzyskało zgody odpowiednich komisji bioetycznych i zostało zarejestrowane w rejestrze *Clinical Trials.gov*. Celem badania była ocena profilu bezpieczeństwa podawania egzogenego syntetycznego surfaktantu lucinactant (Surfaxin - KL4 surfaktant) noworodkom ze średniego stopnia ZZO i leczonych przy pomocy CPAP w ciągu pierwszych 30 minut życia. Do podania aerosolu wykorzystano metodę PADS z jednym z prototypów zawartych w patencie. Testowano dwa różne schematy podawania inhalacji Surfaxinem: Grupa 1 - 3 godzinna inhalacja z minimalną 3 godzinną przerwą przed kolejną dawką; Grupa 2 - 3 godzinna inhalacja z minimalną 1 godzinną przerwą przed kolejną dawką. Do nebulizacji wykorzystano nebulizator membranowy Aeroneb Pro[®] (Aerogen, Galway, Ireland). Należną dawkę wziewną oparto o wartości mechaniki oddychania noworodków w tym przedziale masy ciała i wieku oraz o znaną efektywność nebulizatora Aeroneb Pro ze stężeniem preparatu Surfaxin 20mg/mL. Należna dawka wziewna wynosiła 72 mg fosfolipidów dostarczona w ciągu 3 godzin nebulizacji. Do badania włączono 17 noworodków. Podczas leczenia wziewnym preparatem Surfaxin nie zaobserwowano żadnych zdarzeń niepożądanych; u 52% pacjentów wystąpił okresowy spadek wartości saturacji do 75% lecz bez spadków czynności serca. U żadnego z leczonych noworodków nie wystąpił refluks w rurce intubacyjnej, spadek czynności serca, wstrzymanie podaży leku czy spadek ciśnienia krwi. Efektywność nebulizatora mierzona poprzez dawkę nominalną leku zużytą w ciągu 3 godzin terapii wykazała dużą rozbieżność (15-50 mL). Wszystkie noworodki włączone do badania przeżyły i ponad 70% z nich wymagało tylko jedną dawkę wziewnego Surfaxinu. Dysplazję oskrzelowo-płucną stwierdzono u 11.8%, zastosowanie

intubacji, mechanicznej wentylacji i dotchawiczego podania egzogenego surfaktantu zaobserwowano u 29.4% wszystkich noworodków.

Podanie wziewnego Surfaxinu było procedurą bezpieczną i nie wykazało żadnych działań niepożądanych. Nebulizator membranowy nie zapewnia stałej efektywności przy stosowaniu preparatów o zwiększonej gęstości właściwej i lepkości takich jak surfaktanty i nie może być polecany do nebulizacji egzogennych preparatów surfaktantowych, w tym preparatu Surfaxin. Jednak mimo znacznych różnic w dawce emitowanej z nebulizatora Aeroneb Pro podczas tego badania, zaobserwowano lepsze wyniki końcowe niż w innych badaniach klinicznych na podobnej populacji badanej leczonej z wyboru CPAP donosowym (2003 - VON, 2005 - VON, Morley et al. 2008) co zachęca do kolejnych badań poświęconych aerolacji surfaktantów. Poza tym Surfaxin zachowuje aktywność po nebulizacji i jest dobrym kandydatem do wziewnego stosowania w profilaktyce i leczeniu ZZO.

Niemniej jednak kolejne badania powinny ściśle określić charakterystykę nebulizatora dla konkretnego leku, poza tym powinny określić wziewną dawkę terapeutyczną oraz dawkę depozycji w płucach. Do tej pory jednak nie opracowano żadnego generatora aerozolu, który byłby opracowany i przetestowany dla konkretnego preparatu leczniczego.

3.5 Wyniki i wnioski pracy nr 5

Celem pracy było opracowanie metody obliczania dawki wziewnej u pacjentów leczonych oddechem wspomaganym. Najpierw przeanalizowano dotychczasowe wskazania i efektywność stosowania terapii wziewnych u noworodków leczonych za pomocą mechanicznej wentylacji. Dokładnie określono czynniki wpływające na skuteczność terapii wziewnej u tych pacjentów takich jak: liczba oddechów, czas wdechu, objętość oddechowa, przepływ wdechowy, nawilżenie mieszaniny oddechowej, rodzaj wspomaganego oddechu, rodzaj użytego nebulizatora czy wreszcie rodzaj leku. Następnie, w związku z wykazaniem brakiem zaleceń klinicznych do stosowania terapii wziewnych u noworodków oraz brakiem ujednoczonej metody określania dawki nominalnej lub wziewnej zaproponowano uproszczoną metodę obliczania dawki wziewnej.

Każdy nebulizator, czy system do podawania aerozoli ma ściśle określona charakterystykę wyrażoną w postaci dawki emitowanej i stężenia aerozolu. Dawka aerozolu wydalonej przez nebulizator w czasie określamy mianem dawki emitowanej (E_d). Stężenie aerozolu to ilość leku zawarta w objętości gazu nośnikowego (C) (Bisgaard 1997). Jeżeli przyjmiemy, że nebulizator przedstawia stałą niezmienną w czasie efektywność to dawka lecznicza aerozolu może być zależna od długości dawkowania. Jednak zmienną, która decyduje o dawce wziewnej aerozolu jest objętość minutowa (V_m). Dawka wziewna jest ilością leku, która dostaje się do dróg oddechowych pacjenta podczas cyklu oddechowego i nie jest równoważna z dawką depozycji w płucach (Cole 2000), której u noworodków nie można ocenić z przyczyn etycznych (Everard 2003). Tak więc zmiennymi, które wpływają na dawkę wziewną są: V_m , C i długość dawkowania. Bhutani i wsp. pokazał, że V_m wzrasta wraz z masą ciała pacjenta jednak jej wartość w przeliczeniu na kg masy ciała pozostaje niezmienna w zakresie noworodków

donoszonych i niedonoszonych, co umożliwia łatwe użycie tej wartości do obliczenia dawki wziewnej aerozoli (Bhutani i Sivieri 2003). W związku z tym dawkę wziewną można wyrazić jako:

$$\text{Dawka wziewna aerozolu} = C [\text{mg/L}] \times Vm [\text{L/min/kg}] \times T [\text{min}]$$

Ten wzór może być zastosowany przy spełnionych dwóch warunkach: po pierwsze nebulizator przedstawia stałą efektywność w czasie, po drugie stężenie aerozolu jest mierzona przy znanym przepływie wdechowym pacjenta na końcu rurki intubacyjnej, czy innego stosowanego łącznika z pacjentem. W związku z tym przedstawiony powyżej i opatentowany system PADS spełnia wszystkie warunki powyższego wzoru i umożliwia w miarę dokładne obliczenie dawki wziewnej aerozoli.

Stosowanie leków wziewnych u noworodków mechanicznie wentylowanych nie wykazało oczekiwanej skuteczności. Meta-analizy Cochrane'a nie zalecają stosowania wziewnych leków wśród tej populacji z powodu braku poprawy stanu klinicznego leczonych pacjentów (Brion i wsp. 2006, Ng i daSilva 2006, Shah i wsp. 2007). Niemniej jednak brak w tych opracowaniach dokładnej analizy i oceny metody podawania wziewnych leków nakłania do dalszych badań z dokładniej określoną metodyką pozwalającą na ocenę skuteczności działania samego leku oraz metody uzyskania aerozolu i jego podania do dróg oddechowych pacjenta podczas mechanicznej wentylacji.

4. Podsumowanie

Zastosowany w powyższych publikacjach egzogenny preparat surfaktantu, Surfaxin charakteryzuje się stosunkowo dużą objętością na dawkę (5,8 mL/kg). Zastosowana na modelu zwierzęcym przedwcześnie urodzonego płodu owczego zalecana przez producenta dawka nie wykazała żadnych działań niepożądanych, natomiast dystrybucja leku okazała się lepsza w porównaniu z preparatem o małej objętości na dawkę (2,5 mL/kg)(Terry i wsp. 2010). Ta obserwacja miała duże znaczenie w planowaniu następnych badań nad wziewnym podawaniem tego preparatu, bowiem żeby uzyskać optymalną dystrybucję wziewnego leku w płucach pacjenta poddanego mechanicznej wentylacji, objętość leku w aerozolu może decydować o tym czy lek dostanie się do wszystkich części płuc, również tych które nie są w pełni upowietrznione (Dhand 2008).

Dotychczasowe próby podawania surfaktantów drogą wziewną mogły nie być w pełni skuteczne z kilku powodów. Po pierwsze preparaty odzwierzęce egzogennych surfaktantów mogły nie zachowywać w pełni właściwości fizykochemicznych po zmianie stanu właściwego z cieczy do aerozolu, co nie było dokładnie badane w poprzednich pracach. Po drugie metoda podawania surfaktantów w postaci aerozoli mogła nie być skuteczna w populacji noworodków wentylowanych na co wskazywałby brak zaleceń stosowania leków wziewnych wśród tej populacji (Mazela i Polin 2011). Należy pamiętać, że te same rodzaje leków są skutecznie stosowane w leczeniu różnych jednostek chorobowych w innych populacjach pacjentów, co wskazywałoby na fakt, że być może to nie kwestia efektywności środków farmakologicznych, ale metoda ich podania ma decydujący wpływ na brak oczekiwanej odpowiedzi klinicznej po ich zastosowaniu u noworodków mechanicznie wentylowanych. Tę argumentację wspiera brak

zatwierdzonych przez agencje EMA czy FDA systemów do nebulizacji i podawania aerozoli noworodkom mechanicznie wentylowanym. We wszystkich dotychczas opublikowanych badaniach dotyczących leczenia noworodków mechanicznie wentylowanych lekami wziewnymi, wykorzystano systemy przeznaczone dla pacjentów spontanicznie oddychających, którzy mogą spontanicznie oddychać. W dodatku wykorzystane nebulizatory, dozymetry ciśnieniowe czy komory inhalacyjne były zatwierdzone przez agencje do stosowania u dzieci a nie u noworodków z małą masą ciała wymagających wsparcia oddechowego (Ari i wsp. 2010). W końcu nie każdy nebulizator nadaje się do nebulizacji takich substancji jak mieszanina fosfolipidów i białek, które charakteryzują się dużą gęstością właściwą oraz wzmożoną aktywnością powierzchniowo-czynną. Przyszłe badania II i III fazy powinny odpowiedzieć na pytanie jaki jest optymalny rodzaj nebulizatora oraz metoda podawania aerozoli noworodkom wymagającym mechanicznej wentylacji, oraz jaka jest optymalna dawka wziewnego surfaktantu w profilaktyce ZZO.

Przedstawiony w opracowaniu Adapter do podawania aerozoli oraz system PADS stanowi potencjalnie lepszą metodę podawania wziewnych surfaktantów jak i innych leków w postaci aerozoli niż obowiązująca dziś metoda umieszczania nebulizatora w ramieniu wdechowym respiratora. Wstępne wyniki dotyczące zarówno profilu bezpieczeństwa jak i skuteczności przedstawionego urządzenia i metody podawania aerozoli są obiecujące niemniej jednak wymagają dalszych badań przedklinicznych i klinicznych z zastosowaniem środków farmakologicznych z dokładnie określonymi nebulizatorami w konkretnych wskazaniach klinicznych (Mazela i Henderson 2009, Mazela i wsp. 2007).

Dotychczasowe badania z wykorzystaniem wziewnych preparatów surfaktantów na modelach zwierzęcych wykazały poprawę upowietrzenia płuc, oraz mechaniki oddychania

porównywalne z wynikami uzyskanymi podczas podawania preparatów w postaci płynnej, drogą dotchawiczą (Lewis i wsp. 1993, Lewis i wsp. 1991). Ale dawka płucna surfaktantu w postaci aerozolu wykazana w tych badaniach nie przekraczała 1% dawki nominalnej, co spowodowało, że przez następne 20 lat nikt nie próbował podjąć kolejnej próby podawania surfaktantów egzogennych w leczeniu ZZO w formie aerozoli. Ten fakt był głównym czynnikiem sprawczym prowadzonych przeze mnie badań w kierunku poprawy podawania wziewnych preparatów w warunkach mechanicznej wentylacji.

Z powodu braku możliwości określenia dawki wziewnej aerozoli wśród populacji noworodków mechanicznie wentylowanych wydaje się celowym określenie stężenia aerozoli na końcu rurki intubacyjnej bądź innego stosowanego łącznika z pacjentem w celu wyliczenia dawki wziewnej aerozoli w oparciu o znane parametry mechaniki oddychania. Współcześnie stosowane respiratory nowej generacji mogą monitorować szereg parametrów w tym objętość minutową, którą można wykorzystać do obliczenia dawki wziewnej aerozolu zgodnie z przedstawionym powyżej wzorem (Mazela i Polin 2011).

5. Wnioski końcowe

- Surfaxin dzięki większej objętości na dawkę (5,8 mL/kg) zapewnia lepszą dystrybucję wewnątrzplucną nie zwiększając ryzyka wystąpienia działań niepożądanych w badaniach na modelu zwierzęcym.
- Adapter do podawania aerozoli oraz PADS jest bezpieczną i skuteczną formą dostarczania aerozoli noworodkom wymagającym wspomaganie oddechu.
- Badanie II fazy A wykazało, że Surfaxin (72 mg dawka wziewna) w aerozolu może być bezpiecznie wykorzystany w profilaktyce ZZO przy wykorzystaniu odpowiednio dobranego nebulizatora. Badania II fazy B powinny objąć badania skuteczności dawek eskalacyjnych.
- Znając objętość minutową i stężenie aerozolu można teoretycznie obliczyć dawkę wziewną aerozolu u pacjentów mechanicznie wentylowanych. Dzięki kontroli przepływu aerozolu w systemie PADS można dokładnie obliczyć dawkę wziewną leków podawanych noworodkom wymagającym mechanicznej wentylacji.

6. Streszczenie w języku polskim

Przedstawiona rozprawa habilitacyjna powstała w oparciu o wyniki pięciu prac i stanowi próbę analizy wyników przedklinicznych, klinicznych i standardów postępowania w zakresie stosowania egzogennych surfaktantów w postaci wziewnej w profilaktyce ZZO z zastosowaniem autorskiego systemu do podawania aerozoli noworodkom leczonych przy pomocy CPAP donosowego. W przedstawionych pracach wykazano lepszą dystrybucję syntetycznego surfaktantu o większej objętości w porównaniu z preparatem surfaktantu pochodzenia odzwierzęcego o małej objętości. Poza tym, wykazano brak skuteczności terapii wziewnych w populacji noworodków mechanicznie wentylowanych, co można wiązać z faktem niedoskonałej technologii związanej z dostarczaniem wziewnych leków do dróg oddechowych noworodków wymagających mechanicznej wentylacji. W następstwie tych obserwacji opracowano i opublikowano patent dotyczący zastosowania specjalnego Adaptera umożliwiającego lepsze dostarczanie aerozolu do dróg oddechowych pacjenta mechanicznie wentylowanego. Poza tym Adapter wraz z nową metodą dostarczania gazów respiratora umożliwia łatwiejsze i dokładniejsze obliczenie dawki wziewnej aerozolu. W końcu badanie kliniczne I fazy wykazało profil bezpieczeństwa zastosowania preparatu Surfaxin podanego drogą wziewną wraz z zastosowaniem CPAP donosowego. Dalsze badania przedkliniczne i kliniczne powinny skupić się na określeniu dawek terapeutycznych i dobraniu optymalnego nebulizatora do zastosowanego preparatu terapeutycznego.

7. Streszczenie w języku angielskim

This dissertation is based on five research manuscripts published in peer review journals and is aimed on the analysis of preclinical and clinical studies, and current standards of care aimed on the use of aerosolized surfactants in the prophylaxis of respiratory distress syndrome (RDS). This work includes also description and functional characteristics of novel ventilator circuit (VC) adaptor designed for delivery of aerosolized drugs to mechanically ventilated infants. Included above papers showed better lung distribution of the synthetic surfactant (Surfaxin) with larger volume in comparison to low volume animal derived comparator. Secondly, lack of effectiveness of inhalational therapies used among infants treated with ventilator support. This finding clearly showed the need for the aerosol delivery system especially designed for this population. In order to meet this goal a novel VC adaptor was build and tested proving its' safety and efficacy. Conducted phase I clinical study utilizing aerosolized Surfaxin combined with nasal CPAP showed safety and feasibility of such approach and called for dose escalation study in order to establish therapeutic dose. Finally in the absence of clinical guidelines regarding inhalational therapies in the neonatal intensive care unit (NICU) a reliable and easy way of calculating inhaled aerosol dose for ventilated infants was presented.

8. Spis skrótów

BPD – Bronchopulmonary Dysplasia

CPAP – Continuous Positive Airway Pressure

DPPC – Dipalmitolfosfatydylcholina

EMA – European Medicinal Agency

FDA – Food and Drug Administration

InSurE – Intubation, Surfactant, Extubation

MW – Mechaniczna Wentylacja

PADS – Proximal Aerosol Delivery System

PEEP – Positive End Expiratory Pressure

PPHN – Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn

VON – Vermont Oxford Network

WIPO – World Intellectual Property Organization

ZZO – Zespół Zaburzeń Oddychania

9. Piśmiennictwo

1. 2003-VON. Vermont Oxford Network. Expanded database summary.
2. 2005-VON. Vermont Oxford Network. Expanded database summary.
3. 2007-FDA. Title III - Pediatric medical device safety and improvement act of 2007.
Pages 37-44. *One hundred tenth Congress of The United States of America*,
Washington, DC.
4. Ari, A., O. Atalay, R. Harwood, M. Sheard, E. Aljamhan, and J. Fink. 2010. Influence of nebulizer type, position, and bias flow on aerosol drug delivery in simulated pediatric and adult lung models during mechanical ventilation. *Respir Care* 55: 845-851.
5. Arroe, M., L. Pedersen-Bjergaard, P. Albertsen, S. Bode, G. Greisen, F. Jonsbo, K. Lundstrom, J. Struck, M. Westergaard, and B. Peitersen. 1998. Inhalation of aerosolized surfactant (Exosurf®) to neonates treated with nasal continuous positive airway pressure. *Prenat Neonat Med* 3: 346-352.
6. Avery, M., and J. Mead. 1959. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *Am J Dis Child* 97: 517-23.
7. Ballard, J., R. A. Lugo, and S. J. W. 2002. A Survey of Albuterol Administration Practices in Intubated Patients in the Neonatal Intensive Care Unit. *Respiratory Care* 47: 31-37.
8. Berggren, E., M. Liljedahl, B. Winbladh, B. Andreasson, T. Cursted, B. Robertson, and J. Schollin. 2000. Pilot study of nebulized surfactant therapy for neonatal respiratory distress syndrome. *Acta Paediatrica* 89: 460-464.

9. Bhutani, V., and E. Sivieri. 2003. Pulmonary function and graphics. in J. Goldsmith and E. Karotkin, eds. *Assisted Ventilation of the Neonate*. Saunders.
10. Bindl, L., H. Fahnenstich, and U. Peukert. 1994. Aerosolized prostacyclin for pulmonary hypertension in neonates. *Arch Dis Child* 71: F214-F216.
11. Bisgaard, H. 1997. Patient related factors in nebulized drug delivery to children. *Eur Respir J* 7: 376-377.
12. Bloom, B., J. Kattwinkel, R. Hall, P. Delmore, E. Egan, J. Trout, M. Malloy, D. Brown, I. Holzman, C. Coghill, W. Carlo, A. Pramanik, M. McCaffree, P. Toubas, S. Laudert, L. Gratny, K. Weatherstone, J. Seguin, L. Willett, G. Gutcher, D. Mueller, and W. Topper. 1997. Comparison of Infasurf (calf lung surfactant extract) to Survanta (Beractant) in the treatment and prevention of respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 100: 31-8.
13. Booth, C., M. Premkumar, A. Yannoulis, M. Thomson, M. Harrison, and A. Edwards. 2006. Sustainable use of continuous positive airway pressure in extremely preterm infants during the first week after delivery. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 91: F398-F402.
14. Brion, L., R. Primhak, and W. Yong. 2006. Aerosolized diuretics for preterm infants with (or developing) chronic lung disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*: No.: CD001694.
15. Carroll, C., C. Backer, C. Mavroudis, K. Cook, and D. Goodman. 2005. Inhaled prostacyclin following surgical repair of congenital heart disease - a pilot study. *J Card Surg* 20: 436-439.

16. Chu, J., J. Clements, E. Cotton, M. Klaus, A. Sweet, M. Thomas, and W. Tooley. 1965. Preliminary report: the pulmonary hypoperfusion syndrome. *Pediatrics* 35: 733-42.
17. Clements, J. 1956. Dependence of pressure-volume characteristics of lungs on intrinsic surface-active material. *Am J Physiol* 187: 592-6.
18. Cochrane, C., and S. Revak. 1991. Pulmonary surfactant protein B (SP-B): structure-function relationships. *Science* 254: 566-8.
19. Cole, C. 2000. Special problems in aerosol delivery: neonatal and pediatric considerations. *Respir Care* 45: 646-651.
20. Cowan, F., A. Whitelaw, and M. Silverman. 1991. Cerebral blood flow velocity changes after rapid administration of surfactant. *Archives of Disease in Childhood* 66: 1105-09.
21. Dani, C., G. Bertini, M. Pezzati, A. Cecchi, C. Caviglioli, and F. Rubaltelli. 2004. Early extubation and nasal continuous positive airway pressure after surfactant treatment for respiratory distress syndrome among preterm infants <30 weeks' gestation. *Pediatrics* 113: E560-3.
22. De Klerk, A., and R. De Klerk. 2001. Nasal continuous positive airway pressure and outcomes of preterm infants. *J Paediatr Child Health* 37: 161-167.
23. Dhand, R. 2008. Aerosol delivery during mechanical ventilation: from basic techniques to new devices. *J Aerosol Med Pulm Drug Del* 21: 45-60.
24. Donaldson, S., N. Bendahmane, K. Zeman, J. Wu, A. Brown, D. Hill, E. Bordonali, B. Qaqish, R. Boucher, and W. Bennett. A Double Blind, Cross-over Study

Comparing Aerosolized Lucinactant and Vehicle on Mucociliary Clearance for CF Lung Disease. *NACFC 20-23 Oct. 2010*, Baltimore.

25. Everard, M. 2003. Ethical aspects of using radiolabeling in aerosol research. *Arch Dis Child* 88: 659-661.
26. Finer, N. 2006. To intubate or not - that is the question: continuous positive airway pressure versus surfactant and extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 91: F392-F394.
27. Finer, N., T. Merritt, G. Bernstein, L. Job, J. Mazela, and R. Segal. 2010. An open label, pilot study of Aerosurf combined with nCPAP to prevent RDS in preterm neonates. *J Aerosol Med Pulm Drug Del* 23: 1-7.
28. Fok, T., S. Monkman, M. Dolovich, S. Gray, G. Coates, B. Paes, F. Rashid, M. Newhouse, and H. Kirpalani. 1996. Efficiency of aerosol medication delivery from a metered dose inhaler versus jet nebulizer in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 21: 301-309.
29. Fujiwara, T., H. Maeta, S. Chida, T. Morita, Y. Watabe, and T. Abe. 1980. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. *Lancet* 1: 55-9.
30. Gregory, G., J. Kitterman, R. Phibbs, W. Tooley, and W. Hamilton. 1971. Treatment of the idiopathic respiratory-distress syndrome with continuous positive airway pressure. *N Engl J Med* 284: 1333-40.
31. Grigg, J., S. Arnon, T. Jones, A. Clarke, and M. Silverman. 1992. Delivery of therapeutic aerosols to intubated babies. *Arch Dis Child* 67: 25-30.

32. Halliday H, Tarnow-Mordi W, Corcoran J, Patterson C. 1993. Multicentre randomised trial comparing high and low dose surfactant regimens for the treatment of respiratory distress syndrome (the Curosurf 4 trial). *Arch Dis Child* 69: 276-80.
33. Hascoet, J., M. Andre, F. Didier, I. Le Courtois, M. Dalati, and M. Buchweiller. 1995. Cerebral hemodynamic and EEG effects of treatment with natural versus synthetic surfactant. *Pediatr Res* 37: 211A.
34. Hilgendorff, A., I. Reiss, C. Ruppert, T. Hanfstingl, A. Seliger, A. Guenther, M. Ebsen, and L. Gortner. 2006. Positive end-expiratory pressure modifies response to recombinant and natural exogenous surfactant in ventilated immature newborn rabbits. *Biol Neonate* 90: 210-216.
35. Honda, R., T. Ichiyama, S. Sungawa, S. Maeba, K. Hasegawa, and S. Furukawa. 2009. Inhaled corticosteroid therapy reduces cytokine levels in sputum from very preterm infants with chronic lung disease. *Acta Paediatr* 98: 118-122.
36. Horbar, J., J. Carpenter, J. Buzas, R. Soll, G. Suresh, M. Bracken, L. Leviton, P. Plsek, and J. Sinclair. 2004. Timing of initial surfactant treatment for infants 23 to 29 weeks gestation: is routine practice evidence based? *Pediatrics* 113: 1593-1602.
37. Ivey, H., S. Roth, and J. Kattwinkel. 1977. Nebulization of sonicated phospholipids (PL) for treatment of respiratory distress syndrome (RDS) in infancy. *Pediatr Res* 12: 573.
38. Jobe, A. 1998. Too many unvalidated new therapies to prevent chronic lung disease in preterm infants. *J Pediatr* 132: 200-2.
39. Johnson, M., R. Pearson, M. Nutt, and M. Rairkar. E-PAS2007:61:6292. KL4- surfactant (Aerosurf) retains surface activity after aerosolization.

40. Jorch, G., H. Hartl, B. Roth, A. Kribs, L. Gortner, T. Schaible, K. H. Hennecke, and C. Poets. 1997. To the Editor: Surfactant aerosol treatment of respiratory distress syndrome in spontaneously breathing premature infants. *Pediatr Pulmonol* 24: 222-224.
41. Kaiser, J., C. Gauss, and D. Williams. 2004. Surfactant administration acutely affects cerebral and systemic hemodynamics and gas exchange in very-low-birth-weight infants. *J Pediatr* 144: 809-14.
42. Kattwinkel, J., M. Robinson, B. Bloom, P. Delmore, and J. Ferguson. 2004. Technique for intrapartum administration of surfactant without requirement for an endotracheal tube. *J Perinatol* 24: 360-365.
43. Kelly, L., N. Porta, D. Goodman, C. Carroll, and R. Steinhorn. 2002. Inhaled prostacyclin for term infants with persistent pulmonary hypertension refractory to inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 141: 830-832.
44. Kelly, M., and N. Finer. 1984. Nasotracheal intubation in the neonate: physiologic responses and effects of atropine and pancuronium. *J Pediatr* 105: 303-9.
45. Kinniry, P., J. Pick, S. Stephens, D. Jain, C. Solomides, R. Niven, R. Segal, and M. Christofidou-Solomidou. 2006. KL4 surfactant prevents hyperoxic and LPS-induced lung injury in mice. *Pediatr Pulmonol* 41: 916-928.
46. Kirby, R., E. Robison, J. Schulz, and R. DeLemos. 1972. Continuous-flow ventilation as an alternative to assisted or controlled ventilation in infants. *Anesth Analg* 51: 871-5.
47. Kribs, A. 2011. How best administer surfactant to VLBW infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* doi:10.1136.

48. Kribs, A., C. Hartel, E. Kattner, and e. al. 2010. Surfactant without intubation in preterm infants with respiratory distress: first multi-center data. *Klin Padiatr* 222: 13-17.
49. Leone, T., W. Rich, and N. Finer. 2005. Neonatal intubation: success of pediatric trainees. *J Padiatr* 146: 638-41.
50. Lewis, J., B. Tabor, M. Ikegami, A. Jobe, M. Joseph, and D. Absolom. 1993. Lung function and surfactant distribution in saline-lavaged sheep given instilled vs. nebulized surfactant. *J Appl Physiol* 74: 1256-64.
51. Lewis, J. F., M. Ikegami, A. H. Jobe, and B. Tabor. 1991. Aerosolized surfactant treatment of preterm lambs. *J Appl Physiol* 70: 869-876.
52. Marcinkowski, A., S. Garoff, R. Tilton, J. Pilewski, and T. Corcoran. 2008. Postdeposition dispersion of aerosol medications using surfactant carriers. *J Aerosol Med Pulm Drug Del* 21: 1-9.
53. Marshall, T., R. Deeder, S. Pai, G. Berkowitz, and T. Austin. 1984. Physiologic changes associated with endotracheal intubation in preterm infants. *Crit Care Med* 12: 501-3.
54. Mazela, J., and C. Henderson. 2009. Ventilation circuit adaptor and proximal aerosol delivery system.
55. Mazela, J., T. Merritt, and N. Finer. 2007. Aerosolized surfactants. *Curr Opin Padiatr* 19: 155-162.
56. Mazela, J., T. Merritt, J. Gadzinowski, and S. Sinha. 2006. Evolution of pulmonary surfactants for the treatment of neonatal respiratory distress syndrome and paediatric lung diseases. *Acta Paediatr* 95: 1036-1048.

57. Mazela, J., and R. Polin. 2011. Aerosol delivery to ventilated newborn infants: historical challenges and new directions. *Eur J Pediatr* 170: 433-444.
58. Mead, J., J. Whittenberger, and E. Radford. 1957. Surface tension as a factor in pulmonary volume-pressure hysteresis. *J Appl Physiol* 10: 191-6.
59. Merritt, T., A. Kheiter, and C. Cochrane. 1995. Positive end-expiratory pressure during KL4 surfactant instillation enhances intrapulmonary distribution in a simian model of respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 38: 211-7.
60. Morley, C., P. Davis, W. Lex, L. Prion, J. Hascoet, and J. Carlin. 2008. Nasal CPAP or intubation at birth for very preterm infants. *N Engl J Med* 358: 700-708.
61. Morley, C., N. Miller, and A. Bangham. 1961. Dry artificial lung surfactant and its effect on very premature babies. *Lancet* 1: 64.
62. Moya, F., J. Gadzinowski, E. Bancalari, V. Salinas, B. Kopelman, A. Bancalari, M. Kornacka, T. Merritt, R. Segal, C. Schaber, H. Tsai, J. Massaro, and R. d'Agostino. 2005. A multicenter, randomized, masked, comparison trial of lucinactant, colfosceril palmitate, and beractant for the prevention of respiratory distress syndrome among very preterm infants. *Pediatrics* 115: 1018-29.
63. Moya, F., S. Sinha, J. Gadzinowski, R. d'Agostino, R. Segal, C. Guardia, J. Mazela, and G. Liu. 2007. One-year follow-up of very preterm infants who received lucinactant for prevention or respiratory distress syndrome: results from 2 multicenter randomized, controlled trials. *Pediatrics* 119: e1361-1370.
64. Murdoch, E., and S. Kempley. 1998. Randomized trial examining cerebral haemodynamics following artificial or animal surfactant. *Acta Paediatr* 87: 411-5.

65. Narendran, V., E. Donovan, S. Hoath, H. Akinbi, J. Steichen, and A. Jobe. 2003. Early bubble CPAP and outcomes in ELBW preterm infants. *J Perinatology* 23: 195-199.
66. Newman, B., and K. Oh. 1994. Iatrogenic tracheobronchial perforation in infants. *J Thoracic Imaging* 9: 269-72.
67. Ng, G., and O. daSilva. 2006. Bronchodilators for the prevention and treatment of chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Library*.
68. Raju, T., and P. Langenberg. 1993. Pulmonary hemorrhage and exogenous surfactant therapy: a metaanalysis. *J Pediatr* 123: 603-10.
69. Rayleigh, L. 1890. Measurements of oil necessary in order to check the motions of camphor upon water. *Proc R Soc* 47.
70. Reininger, A., R. Khalak, J. Kendig, R. Ryan, T. Stevens, L. Reubens, and C. D'Angio. 2005. Surfactant administration by transient intubation in infants 29 to 35 weeks' gestation with respiratory distress syndrome decreases the likelihood of later mechanical ventilation: a randomized controlled trial. *J Perinatology* 25: 703-708.
71. Robillard, E., Y. Alarie, P. Dagenais-Perusse, E. Baril, and A. Guilbeault. 1964. Micro-aerosol administration of synthetic dipalmitoyl lecithin in the respiratory distress syndrome: A preliminary report. *Can Med Assoc J* 90: 55-57.
72. Rojas, M. A., J. M. Lozano, M. X. Rojas, M. Laughon, C. L. Bose, M. A. Rondon, L. Charry, J. A. Bastidas, L. A. Perez, C. Rojas, O. Ovalle, L. A. Celis, J. Garcia-Harker, M. L. Jaramillo, and for the Colombian Neonatal Research Network. 2009. Very Early Surfactant Without Mandatory Ventilation in Premature Infants

Treated With Early Continuous Positive Airway Pressure: A Randomized, Controlled Trial. *Pediatrics* 123: 137-142.

73. Rowlinson, J., and B. Widom. 1989. *Theory of Capillarity*. Clarendon Publishers, Oxford.
74. Shah, V., A. Ohlson, H. Halliday, and M. Dunn. 2007. Early administration of inhaled corticosteroids for preventing chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm neonates. *Cochrane Library*.
75. Shannon, D., and J. Bunnell. 1976. Dipalmitoyl lecithin aerosol in RDS. *Pediatr Res* 1: 467.
76. Sinha, S., T. Lacaze-Masmonteil, A. Valls i Soler, T. Wiswell, J. Gadzinowski, J. Hajdu, G. Bernstein, M. Sanchez-Luna, R. Segal, C. Schaber, J. Massaro, and R. d'Agostino. 2005. A multicenter, randomized, controlled trial of lucinactant versus poractant alfa among very premature infants at high risk for respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 115: 1030-8.
77. Soll, R. 2000. Prophylactic synthetic surfactant for preventing morbidity and mortality in preterm infants. Pages CD001079. *Cochrane Database Syst Rev*.
78. Soll, R. 2002. Prophylactic natural surfactant extract for preventing morbidity and mortality in preterm infants. Pages 1-9. *Cochrane Database Syst Rev*.
79. Soll, R., and C. Morley. 2001. Prophylactic versus selective use of surfactant in preventing morbidity and mortality in preterm infants. *The Cochrane Library*. Issue 2, Oxford, United Kingdom: Updated Software.

80. Sood, B., V. Delanley-Black, J. Aranda, and S. Shankaran. 2004. Aerosolized PGE₁: a selective pulmonary vasodilator in neonatal hypoxemic respiratory failure results of a phase I/II open label clinical trial. *Pediatr Res* 56: 579-585.
81. Stevens, T., M. Blennow, and R. Soll. 2004. Early surfactant administration with brief ventilation vs selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. Pages CD003063. *Cochrane Database Syst Rev*.
82. Szczapa J, Twarowska I, Kornacka M. 1992. Wyniki wczesnego leczniczego podania surfaktantu Alveofact SF-RI u noworodków z zespołem zaburzeń oddychania. *Klin Perinat Gin* 2: 160-165.
83. Szymankiewicz M, Gadzinowski J, Bręborowicz G. 1993. Surfactant-Curosurf administration in neonates with RDS. *Klin Perinat Gin* 31: 39-8.
84. Terry, M., T. Merritt, B. Harding, H. Schroeder, J. Merrill-Henry, J. Mazela, T. Gregory, R. Segal, G. Power, and A. Blood. 2010. Pulmonary distribution of lucinactant and poractant alfa and their peridosing hemodynamic effects in a preterm lamb model of respiratory distress syndrome. *Pediatric Research* 68: 193-8.
85. Thomas, N., P. Simmons, R. Segal, A. Randolph, F. Moya, B. Markovitz, C. Guardia, and I. Cheifetz. 2011. Safety and efficacy of lucinactant, a peptide-containing, synthetic surfactant, in infants with acute hypoxemic respiratory failure: a multicenter phase 2 study. *Society of Critical Care Medicine*, San Diego, CA.
86. Thomson, M. 2002. Continuous positive airway pressure and surfactant; combined data from animal experiments and clinical trials. *Biol Neonate* 81 Suppl 1: 16-9.

87. Trevisanuto, D., N. Grazzina, P. Ferrarese, M. Micaglio, C. Verghese, and V. Zanardo. 2005. Laryngeal mask airway used as a delivery conduit for the administration of surfactant to preterm infants with respiratory distress syndrome. *Biol Neonate* 87: 217-20.
88. van der Bleek, J., F. Plotz, F. van Overbeek, A. Heikamp, H. Beekhuis, R. Wildevuur, A. Okken, and S. Bambang Oetomo. 1993. Distribution of exogenous surfactant in rabbits with severe respiratory failure: the effect of volume. *Pediatr Res* 34: 154-8.
89. Verder, H., P. Albertsen, F. Ebbesen, G. Greisen, B. Robertson, A. Bertelsen, L. Agertoft, B. Djernes, E. Nathan, and J. Reinholdt. 1999. Nasal continuous positive airway pressure and early surfactant therapy for respiratory distress syndrome in newborns of less than 30 weeks' gestation. *Pediatrics* 103: E24.
90. Verder, H., B. Robertson, G. Greisen, F. Ebbesen, P. Albertsen, K. Lundstrom, and T. Jacobsen. 1994. Surfactant therapy and nasal continuous positive airway pressure for newborns with respiratory distress syndrome. Danish-Swedish Multicenter Study Group. *N Engl J Med* 331: 1051-5.
91. von Neergaard, K. 1929. Auffassungen uber einen grundbegriff der atemmechanik. *Z Ges Exp Med* 66: 1-22.
92. Wolfson, M., D. Malone, J. Wu, T. Gregory, J. Mazela, and T. Shaffer. Surfaxin significantly attenuates inflammation and preserves lung structural integrity versus animal-derived surfactants in an RDS model. *E-PAS2008:3764.1*.
93. Wolfson, M., D. Malone, J. Wu, T. Gregory, J. Mazela, and T. Shaffer. Aerosurf delivery during CPAP improves lung mechanics and reduces inflammation in spontaneously breathing preterm lambs. *E-PAS2008:3763.19(2)*.

94. Yost, C., and R. Soll. 2000. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. Pages CD001456. *Cochrane Database Syst Rev*.
95. Yost, C., and R. Soll.. 2002. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. *The Cochrane Library. Issue 2*, Oxford, United Kingdom: Updated Software.
96. Zhu, Y., T. Miller, A. Chidekel, and T. Shaffer. 2008. KL4 surfactant (Lucinactant) protects human airway epithelium from hyperoxia. *Pediatr Res* 64: 154-158.