(19) Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 28 351 T3** 2012.03.15

(12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 692 984 B2**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 28 351.7**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/03561**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 91 2377.2**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1994/022499**
(86) PCT-Anmeldetag: **31.03.1994**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **13.10.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.01.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **19.09.2001**
(97) Veröffentlichungstag des geänderten Patents beim EPA: **24.08.2011**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.03.2012**

(51) Int Cl.: ***A61L 9/04*** (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)

Patentschrift wurde im Einspruchsverfahren geändert

(30) Unionspriorität:
43653 **06.04.1993** **US**

(84) Benannte Vertragsanstalten:
CH, DE, FR, GB, IE, IT, LI, SE

(73) Patentinhaber:
Brigham and Women's Hospital, Boston, Mass., US

(74) Vertreter:
df-mp, 80333, München, DE

(72) Erfinder:
FROSTELL, Claes, G., S-162 51 Vallingby, SE; HEDENSTIERNA, Goran, S-182 64 Djursholm, SE; HOGMAN, Marieann, E., S-740 50 Alunda, SE; LOSCALZO, Joseph, Dedham, US; STAMLER, Jonathan, S., Chapel Hill, US

(54) Bezeichnung: **SYSTEMISCHE EFFEKTE DER INHALATION VON STICKSTOFFOXID**

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Hintergrund der Erfindung

[0001] Unter physiologischen Bedingungen ist Stickoxid (NO) überaus instabil, wobei es im Wesentlichen spontan mit Sauerstoff, dem Superoxidanion und Redoxmetallen reagiert (Lancaster et al., Proc. Natl. Acad. Sei USA, 87:1223–1227 (1990)); Ignarro et al., Circ. Res. 65:1–21 (1989); und Gryglewski et al., Nature 320: 454–456 (1986)).

[0002] Die Konsequenzen der NO-Produktion in der Lunge sind nicht bekannt. Es wurde jedoch angenommen, dass potentielle, vorteilhafte Bronchodilatationswirkungen von NO von der Erzeugung toxischer Stickoxide überwogen werden können, die sich leicht unter der hohen Umgebungskonzentration an Sauerstoff und anderen reaktiven Sauerstoffspezies bildet. Die Einführung von NO in die Lungen ist von einigen mit nachteiligen Wirkungen in Zusammenhang gebracht worden, die als direktes Ergebnis einer besonderen chemischen Reaktivität des ungeladenen NO-Radikals (NO-) auftreten. Diese nachteiligen Wirkungen erzeugen Hindernisse für die NO-Therapie, welche allgemein die Verabreichung von NO- umfasst. Zum Beispiel erzeugt die Reaktion zwischen NO- und O_2 oder reaktiven O_2-Spezies, die in hohen Konzentrationen in der Lunge vorliegen, hochtoxische Produkte, wie NO_2 und Peroxinitrit. Diese Reaktionen resultieren auch in der schnellen Inaktivierung von NO, wodurch angeblich jegliche vorteilhafte pharmakologische Wirkung eliminiert wird. (Furchgott R. F. et al., I. Endothelium-Derived Relaxing Factors in the Nitric Oxide; Herausgeber Rubanyi G. M. pp. (1990), Gryglewski, R. J. et al., Nature 320:454–456 (1986)). Weiterhin reagiert NO' mit der Redoxmetallposition am Hämoglobin, wobei sich Methämoglobin bildet, welches die Sauerstoff-Hämoglobinbindung inhibiert, wodurch die Sauerstofftransportkapazität des Blutes signifikant herabgesetzt wird.

[0003] Trotzdem haben einige Forscher überzeugend den Wert der NO-Therapie bei Bronchokonstriktionen und reversibler Pulmonalvasokonstriktion gezeigt. Zum Beispiel offenbaren Zapol und Frostell, PCT-Veröffentlichung Nr. WO 92/10228, ein Verfahren zur Behandlung oder Vorbeugung von Bronchokonstriktionen, z. B. Asthma, oder reversibler Pulmonalvasokonstriktion, z. B. Pulmonalhochdruck durch Inhalation von gasförmigem Stickoxid oder stickoxidfreisetzenden Verbindungen. Viele solcher Verbindungen sind bekannt. Diese Forscher charakterisieren das Säugetierkreislaufsystem als aus zwei getrennten Kreisläufen bestehend, dem systemischen Kreislauf und dem pulmonalen Kreislauf, welche durch einander gegenüberliegende Seiten des Herzes reguliert werden. Sie berichten, dass (da NO-Gas, das in den Blutstrom eintritt, durch Kombination mit Hämoglobin schnell inaktiviert wird) die bronchodilatatorischen Wirkungen von inhaliertem NO auf die ventilierten Bronchien beschränkt sind und die vasodilatatorischen Wirkungen von inhaliertem NO auf jene Blutgefäße in der Nähe der Stelle der NO-Passage in den Blutstrom beschränkt sind: d. h. pulmonale Mikrogefäße. Sie schließen daraus, dass ein wichtiger Vorteil für ihre Bronchodilatations- und Pulmonalvasodilatationsverfahren ist, dass man selektiv Bronchospasmen und/oder Pulmonalhochdruck vorbeugen oder behandeln kann, ohne gleichzeitig eine Verminderung des systemischen Blutdrucks auf potentiell gefährliche Werte hervorzurufen und dass deren Verfahren daher eine wirksame Umkehr von Pulmonalhochdruck ohne dem Risiko der Unterversorgung vitaler Organe, einem venösen Pooling, Ischämie und Herzversagen erlaubt, die eine systemische Vasodilatation begleiten können. Genauer berichten sie, dass das schnelle Binden von NO an Hämoglobin sicherstellt, dass jegliche vasodilatatorische Wirkung von inhaliertem NO ausschließlich eine lokale oder selektive Wirkung in den Blutgefäßen der Lunge hat, wobei keine gleichzeitige Vasodilatation in dem nachfolgenden systemischen Kreislauf auftritt.

[0004] N. Engl. J. Med., 328(6)399–405 (1983) offenbart, dass eine Verabreichung von Stickoxid mittels Inhalation darin vorteilhaft ist, dass sie den systemischen Arteriendruck nicht verringert, wie es bei intravenös verabreichten Vasodilatoren der Fall ist. Es ist jedoch keine Lehre in Bezug auf systemische Wirkungen offenbart, die aus der Inhalation von gasförmigem Stickoxid resultieren, wobei tatsächlich, in Hinblick auf die darin besonders diskutierte systemische Wirkung, deren Abwesenheit als Vorteil angesehen wird.

Zusammenfassung der Erfindung

[0005] Erfindungsgemäß wurde zum ersten Mal gefunden, dass Stickoxid bei der Vorbeugung oder Behandlung systemischer Plättchenaggregation und auch als systemisches Antikoagulanz wirksam ist.

Kurzbeschreibung der Figur

[0006] Abb. 1 ist ein Diagramm, welches das Verhältnis der Blutungszeit bei 10 Kaninchen zeigt, die 3 ppm NO (n = 2), 30 ppm NO (n = 7) oder 300 ppm NO (n = 2) für 15 Minuten ausgesetzt waren und 15 Minuten nach

Beendigung der NO-Inhalation. Das Das Blutungszeitverhältnis in Klammern ist die tatsächliche Blutungszeit geteilt durch den Basislinienwert.

Ausführliche Beschreibung

[0007] Die Erfindung betrifft somit die Verwendung von gasförmigem Stickoxid (NO) zur Herstellung eines Pharmazeutikums zur systemischen Behandlung von systemischer Blutplättchenaggregation und -koagulation, umfassend Verabreichen über den Inhalationsweg an einen Menschen oder an ein Tier, welche eine therapeutisch wirksame Menge von Stickoxid benötigen.

[0008] Verabreichen des Stickoxids an die Lunge kann mittels Handbeatmung, tragbaren Beatmungsgeräten, Überdruckrespiratoren oder anderen bekannten Vorrichtungen und Verfahren zur respiratorischen Verabreichung erfolgen.

[0009] Die Menge des erfindungsgemäßen Therapeutikums, die bei der Behandlung einer bestimmten Störung oder eines bestimmten Zustands wirksam sein wird, hängt von der Art der Störung oder des Zustands ab und kann durch klinische Standardverfahren bestimmt werden. Die präzise einzusetzende Dosis in der Formulierung hängt auch von der Wahl der Verbindung und der Schwere der Erkrankung oder Störung ab und ist nach der Beurteilung des Praktikers und der Umstände jedes Patienten zu entscheiden. Geeignete Dosierungen zur respiratorischen Verabreichung reichen allgemein von ungefähr 1,0 Picogramm bis ungefähr 1,0 Milligramm aktiver Verbindung pro Kilogramm Körpergewicht. Wirksame Dosen können von Dosis-Reaktionskurven extrapoliert werden, die von in vitro oder Tiermodell-Testsystemen abgeleitet sind. Dosierungsbereiche wie offenbart in Zapol und Frosteil, siehe oben, und höher können therapeutisch eingesetzt werden.

Beispiel 1

Wirkung der NO-Inhalation auf die Koagulationszeit

Kaninchen und Mensch

[0010] In dieser Untersuchung haben wir uns auf Kurzzeitwirkungen von Koagulationsparametern in Kaninchen von inhaliertem Stickoxid (NO) im Dosierungsbereich von 3 bis 300 ppm und in 3 menschlichen Probanden, die 30 ppm NO ausgesetzt waren, konzentriert. Die Untersuchungen wurden in der Abteilung für Klinische Physiologie am Universitätskrankenhaus Uppsala, Schweden durchgeführt.

MATERIAL UND METHODEN

a) Kaninchen

[0011] Die Untersuchung wurde von dem Komitee für Tierethik der Universität Uppsala genehmigt. Weiße Neuseelandkaninchen beiderlei Geschlechts (n = 11) mit einem mittleren Körpergewicht von 3,1 ± 0,2 kg wurden untersucht. Es wurde eine Neuroleptanästhesie (1) vor dem intubieren verabreicht und während des Experiments aufrechterhalten. üKnstliche Beatmung erfolgte mit einem Siemens 900C Beatmungsgerät (Siemens-Elema, Lund, Schweden) mit einer eingeatmeten Sauerstofffraktion (FIO_2) von 0,3. Nach einer 30-minütigen Stabilisierungsphase wurde ein doppeltes Atemzugvolumen zugeführt, um kollabiertes Lungengewebe wieder zu öffnen. Die Einstromdruckgrenze (Pmax) wurde auf 25 cm H_2O eingestellt. Die Atmungsmechanik, d. h. Respirationswiderstand (Rrs) und Lungendehnbarkeit (Crs), mittlerer Arteriendruck (MAP), Pulsfrequenz, End-Atemzug CO_2 ($EtCO_2$) und periphere Sauerstoffsättigung (SpO_2) wurden an der Basislinie und mm Ende der NO-Inhalationsperiode gemessen. NO, 1000 Teile pro Million {ppm) in Stickstoff (N_2) wurde von AGA Medical Gas AS, Lidingo, Schweden bezogen. Die gewünschte NO-Konzentration im eingeatmeten Gas wurde durch Mischen von NO in N_2, Sauerstoff und Luft am Niederdruckgaszufuhreinlaß des Beatmnugsgerätes erzielt, wie zuvor beschrieben (3).

[0012] Die Blutungszeit wurde wiederholt in einem Kaninchenohr-Standardmodell gemessen, wie von Merton & Thomas (2) beschrieben, wobei ein standardisierter Einschnitt (Minilancet, CCS, Borlange, Schweden) verwendet wurde. Blut wurde mit einem Filterpapier in 10 Sekundenintervallen abgetupft bis kein Blutfleck auf dem Filterpapier erschien. Blut wurde von einer Ohrvene zur Messung der Simplastinkoagulationszeit (in vitro-Messung), der Fibrinogenkonzentration und zur Zählung der Plättchen unmittelbar vor jeder Messung der Blutungszeit entnommen.

[0013] Unser Protokoll sah die Messung von Blutungszeit und die Entnahme von Blutproben vor bei 1) Basislinie; 2) nach 15 Minuten des Inhalierens von NO 3 ppm (n = 2); 3) NO 30 ppm (n = 7) oder NO 300 ppm (n = 2); 3) 30 Minuten nach der Beendigung der NO-Inhalation. Die Messung während der NO-Inhalation wurde nach 15 Minuten begonnen und die NO-Inhalation fortgeführt, bis die Messung beendet war.

b) Menschen

[0014] Das Komitee für menschliche Ethik der Universität Uppsala hat die Untersuchungen einer Kurzzeitexposition (< 30 Minuten) mit inhaliertem Stickoxid 80 ppm NO oder weniger bei menschlichen Freiwilligen genehmigt. Die Probanden wurden frühestens 2 Stunden nach einem leichten Mahl untersucht, sie waren subjektiv lungengesund und sie wurden im Wachzustand auf einem Stuhl sitzend untersucht. Sie nahmen zu dieser Zeit keine Medikamente und hatten für wenigstens 10 Tage vor der Untersuchung kein Aspirin genommen. Wir haben SpO_2 und die Pulsfrequenz durch Pulsoxymetrie gemessen.

[0015] Der Proband trug eine Nasenklammer und wurde über ein Mundstück mit einem Nicht-Rückatmungskreislauf verbunden, der aus einem 10 l Reservoirbeutel und Einwegventilen bestand, um eingeatmetes von ausgeatmetem Gas zu trennen. Ausgeatmetes Gas wurde gespult und entsorgt. Eingeatmetes Gas wurde durch ein Einwegventil geleitet und einen Natriumkalkbehältnis, der in dem System gebildetes NO_2 entfernte, wobei das Gas dann durch ein Mundstück inhaliert wurde. NO, 1000 ppm in N_2, wurde mit N_2 und O_2 gemischt, wobei volumetrisch kalibrierte Durchflußmeßgeräte verwendet wurden, um eine Gasmischung mit einem FIO_2 von 0,21 zu ergeben. Der FIO_2 wurde kontinuierlich mit einem Beckman O_2-Analysator überwacht (OM11, Beckman Instruments AB, Stockholm, Schweden). Die Probanden begannen 3 Minuten bevor wir Basislinienmessungen vornahmen durch das System zu atmen, wobei nachfolgend der N_2-Strom reduziert wurde, um die Zugabe von NO in N_2 bis zur gewünschten NO-Konzentration zu erlauben. Das System ist zuvor beschrieben worden (4). Konzentrationen von NO und NO_2 wurden online mittels Chemiluminzeszenz überprüft (Tecan 502, Schweiz).

[0016] Proben von venösem Blut wurden unmittelbar vor der Messung der Blutungszeit entnommen und hinsichtlich der Plättchenzahl, der Fibrinogenkonzentration und in vitro-Koagualationszeit untersucht. Die Blutungszeit wurde mit einem Standardeinschnitt (Simplastin II, Organon Tika, NC, USA) an der ventralen Seite des linken Vorderarms gemessen. Blut wurde mit einem Filterpapier in 10 Sekunden-Intervallen abgetupft, bis kein Blutfleck auf dem Filterpapier erschien.

[0017] Unser Protokoll sah die Messung von Blutungszeit und die Entnahme von Blutproben vor bei 1) Basislinie; 2) 15 Minuten nach dem Inhalieren von NO 30 ppm und 3) 60 Minuten nach der Beendigung der NO-Inhalation. Die NO-Inhalation wurde fortgeführt, bis die Messung der Blutungszeit beendet war.

STATISTIK

[0018] Eine statistische Analyse wurde unter Verwendung des t-Tests für gepaarte Daten durchgeführt (SigmaStat, Jandel Scientific, Erkrath, Deutschland). Die Daten sind als Mittelwerte ± SEM angegeben.

ERGEBNISSE

a) Kaninchen

[0019] Die Zugabe von NO zum eingeatmeten Gas beeinflußte nicht die Pulsfrequenz, MAP, $EtCO_2$, SpO_2, Pmax, Rrs, Crs (Daten nicht gezeigt). Es gab keine signifikanten Veränderungen der Plättchenzahl in der Fibrinogenkonzentration und in der in vitro-Koagulationszeit während der Untersuchung (Daten nicht angegeben). Die Blutungszeit betrug 49 ± 6 Sekunden unter Basislinienbedingungen und erhöhte sich nach 15 Minuten der NO-Inhalation 30 ppm auf 72 ± 9 Sekunden (Verhältnis 1,54 ± 0,2, p = 0,015). Schließlich betrug die Blutungszeit 30 Minuten nach Beendigung der NO-Inhalation 53 ± 4 Sekunden (Verhältnis 1,13 dz 0,2). Zwei Kaninchen, die nur 3 ppm NO ausgesetzt waren, zeigten ein erhöhtes Blutungszeitverhältnis von 1,48 und kehrten 30 Minuten nach Beendigung der NO-Inhalation auf die Basislinie zurück. Eine Inhalation von 300 ppm NO bei zwei Kaninchen erhöhte dieses Blutungszeitverhältnis auf 2,44, welches 30 Minuten nach Beendigung der NO-Inhalation auf einem Wert von 3,19 hoch blieb; siehe auch **Abb. 1**.

b) Menschen

[0020] Kein Unwohlsein wurde von einem Probanden während der NO-Inhalation bemerkt. Es wurde keine Veränderung in der Herzfrequenz oder SpO_2 während der Untersuchung festgestellt. Es gab keine signifikanten Änderungen bei der Plättchenzahl, Fibrinogenkonzentration und der in vitro-Koagulationszeit während der Untersuchung (Daten nicht gezeigt). Das Blutungszeitverhältnis erhöhte sich auf 1,4 nach 15 Minuten der Einatmung von NO 30 ppm und kehrte 60 Minuten nach Beendigung der NO-Inhalation auf die Basislinie zurück. Siehe auch Tabelle 1.

Tabelle 1

Blutungszeit in Sekunden vor, während der NO-Inhalation, nach 15 Minuten des Inhalierens von 30 ppm NO und 60 Minuten nach Beendigung der NO-Inhalation. Verhältnis der Blutungszeiten in Klammem, wobei die tatsächliche Blutungszeit durch den Basislinienwert dividiert ist.			
	vor	während NO	nach NO
Proband 1	610	910 (1,51)	641 (1,05)
Proband 2	262	381 (1,42)	280 (1,04)
Proband 3	372	487 (1,31)	392 (1,05)

[0021] Diese Untersuchung bestätigt, dass die Inhalation von Stickoxid die Blutungszeit bei Kaninchen und Menschen verlängert. Die Verlängerung der Blutungszeit war bei Kaninchen signifikant nach 15 Minuten der Inhalation von 30 ppm NO und konnte bei menschlichen Freiwilligen bei derselben Dosis für dieselbe Zeit klar demonstriert werden.

[0022] Die zugeführte Dosis an NO wurde on-line mittels Chemilumineszenz während der Untersuchung validiert. Die Wirkung war innerhalb 30 Minuten nach dem Abschalten von NO reversibel. Die Wirkung scheint dosisabhängig zu sein und zwei Kaninchen, die 300 ppm NO für 30 Minuten ausgesetzt waren, lag die Wirkung 30 Minuten nach dem Abschalten von NO immer noch vor (**Abb. 1**).

[0023] Wenn Plättchen den Lungenkreislauf passieren, konnten sie leicht einiges des inhalierten NO absorbieren wobei ihre Aggregations- und Adhäsionstendenz durch eine Erhöhung des Gehalts an cyclischem GMP in den Plattchen leicht unterdrückt wurde (4). Die in dieser Untersuchung gemachte Beobachtung einer verlängerten (> 30 Minuten) Wirkung der NO-Inhalation, wenn 300 ppm NO eingeatmet wurden, erfordert einen zusätzlichen Mechanismus für den Effekt. Die Inhalation von NO muss einen Speicher von NO oder NO freisetzenden Verbindungen im Blut erhöhen, der NO langsam für viele Minuten nach der Beendigung der NO-Inhalation freisetzen kann.

Quellen

[0024] [0024]

1. Flecknell PA., In: Laboratory animal anesthesia. Academic Press; 128–129.
2. Merton RE, Thomas DP. Experimental studies on the relative efficacy of dermatan sulphate and heparin as antithrombotic agents. Thromb Haemosts 1987; 58:839–842.
3. Hogman M, Frostell C, Arnberg H, Hedenstiema G. Inhalation of nitric oxide modulates metacholine-induced bronchoconstriction in the rabbit. EurRespirJ 1993:6:177–180.
4. Stamler J, Loscalzo J. The antiplatelet effects of organic nitrates and related nitroso compounds in vitro and in vivo and their relevance to cardiovascular disorders. J Am Coll Cardiol 1991; 18:1529–1536.

Beispiel 2

[0025] Das Komitee für menschliche Ethik des Karolinska Institutes genehmigte den Einsatz der Stickoxidinhalation bei Patienten mit kritischem Pulmonalhochdruck. Einzelheiten der Ausstattung sind dem Anhang zu entnehmen.

[0026] Der Patient, ein voll ausgetragenes Baby weiblichen Geschlechts mit einem Gewicht von 3,1 kg war in einem örtlichen Kreiskrankenhaus geboren worden. Unmittelbar nach der Geburt ergab die Diagnose einen Verdacht auf congenitale diaphragmische Hernie (CDH) aufgrund der Abwesenheit von Atmungsgeräuschen über dem linken Hemithorax, dem scaphoiden Abdomen und gestörter Herzgeräusche. Anfängliche Apgar-

Scores waren 2-6-8 jeweils nach 1, 5 und 10 Minuten. Das Kind wurde umgehend auf unsere neonatale Intensivstation verlegt (20 km). Bei der Ankunft hatte der Patient eine periphere Sauerstoffsättigung von 70 bis 75% bei spontaner Atmung mit zusätzlichem Sauerstoff über eine Gesichtsmaske. Eine präoperative Stabilisierung wurde unter Verwendung von Standardverfahren erzielt, einschließlich nasotrachialer Intubation, mechanischer Beatmung, Säure-Base-Korrektur und Volumenersatz. Ein Bruströntgenbild bestätigte die Diagnose CDH, und zeigte die Milz, Ventrikel und Dünndarm mit einem Teil des Transversalcolon im linken Hemithorax. Die Zeit von der Ankunft bis zur chirurgischen Behandlung betrug 3 Stunden. Das Kind wurde unter Verwendung von Fentanyl, 25 ug/kg, Middazolam, 0,15 mg/kg, und Pancuronium, 0,15 mg/kg anästhesiert und mechanisch mit O_2 in Luft (50–70% O_2) beatmet. Ein typischer posterioler Defekt wurde im linken Diaphragma beobachtet und genäht. Ein Drain wurde im linken Pleuralraum plaziert. Postoperativ wurde das Kind in die Neonatal-Intensivstation verlegt und tief sediert gehalten.

[0027] Ein adäquater Gasaustausch konnte unter Verwendung von 50% eingeatmeter Sauerstofffraktion (FIO_2), einem Spitzeninspirationsdruck (PIP)/positiver End-Expirationsdruck (PEEP) von 20/2 cm H_2O, einer Respirationsfrequenz von 40/Minute und Inspirations-Expirationsverhältnis wie 1:2 erzielt werden. Zu diesem Zeitpunkt wurden keine vasoaktiven Medikamente benötigt.

[0028] Nach einem Zeitraum von 8 Stunden der stabilen Zirkulation und des Gasaustausches wurde eine Verschlechterung der Sauerstoffversorgung bemerkt. Diese Verschlechterung schritt trotz erhöhter ventilatorischer Unterstützung und genauester Korrektur des Säure-Base-Gleichgewichts fort. Postoperativ konnten nach 20 Stunden kein weiterer Nutzen aus der Erhöhung der ventilatorischen Einstellungen von FIO_2, 1,0, PIP/PEEP 36/4 und Respirationsfrequenz 80/Minute erzielt werden. Eine echokardiographische Untersuchung zeigte Indizien für eine pulmonale Hypertension mit einem erhöhten systemischen Druck des rechten Ventrikels (einem Druckgradienten von 65 mmHg zwischen dem rechten Ventrikel und Atrium, wie mittels Tricuspid Insufficiency Jet ermittelt). Das Geschwindigkeitsprofil in der Pulmonalarterie zeigte eine typische Abstufung und das Verhältnis des Präejektionszeitraums gegenüber Beschleunigungszeit wurde erhöht (PEP/AT = 2,5). Der Ductus Arteriosus war patent und während 80% des Herzzyklusstroms von der Pulmonalarterie zur Aorta gerichtet. Es wurde nachfolgend eine pharmakologische Pulmonalvasodilation unter Verwendung einer Prostacyclin(5–20 ng/kg/Minute)-Infusion versucht. Zur Stützung des systemischen Blutdrucks wurde eine Volumenladung (5% Albumin 10 ml/kg) und eine Dopamin-Infusion (7–15 ug/kg/Minute) verabreicht. Nach 8 Stunden von suboptimalem aber akzeptablem Gasaustausch wurde eine dramatische Verschlechterung bei der Sauerstoffversorgung beobachtet, welche für die nächsten 45 Minuten fortschritt. Schließlich konnte keine periphere arterielle Sättigung gemessen werden und eine tiefe Zyanose mit Luftschnappen wurde festgestellt. Wiederholte Perioden einer manuellen Ventilation mit 100% O2 für insgesamt 20 Minuten verbesserten die Situation nicht. Der Endotrachialtubus wurde nicht entfernt. Die Atmungsgeräusche über den Thorax waren unverändert. Ein postductaler, arterieller Blutgas-Wert zeigte eine schwere metabole Acidose (Basenüberschuß – 29 mmol/l), eine deutliche Hypercarbie und einen postductalen PaO_2 von nur 16 mm Hg. Trotz offensichtlichem Atemversagen wurde jedoch der arterielle Blutdruck beibehalten und die Herzfrequenz lag bei oder über 100 Schläge/Minute.

Inhalation von Stickoxid

[0029] Da die herkömmliche Behandlung fehlgeschlagen war und ein Kreislaufkollaps als eminent angenommen wurde, wurde die Entscheidung zu dem Versuch getroffen den Gasaustausch mit zusätzlicher NO-Inhalation wieder herzustellen. NO 20 ppm wurde dem eingeatmeten Gas zugegeben und 40 ml Tris-Natriumbicarbonatpufferlösung (Tricarbonat, Pharmacia, Uppsala, Schweden) wurde über 10 Minuten gegeben, um der schweren metabolischen Acidose entgegenzuwirken. Eine graduelle Erhöhung von SpO_2 wurde über die nächsten 20 Minuten beobachtet und wiederholte arterielle Blutgasproben bestätigten die Wiederherstellung des Gasaustausches. Während dieser Zeit wurde die Prostacyclininfusion unterbrochen und die NO-Verabreichung auf 10 ppm herabgesetzt.

[0030] Während der nächsten 75 Minuten konnte die ventilatorische Unterstützung auf einen FIO_2 von 0,7, Spitzenluftwegsdruck/PEEP auf 20/0 cm H2O und Respirationsfrequenz 70/Minute verringert werden. Eine wiederhole echocardiographische Untersuchung zeigte ähnliche Befunde im Vergleich zu der vorherigen Untersuchung mit der Ausnahme eines verringerten PEP/AT (1,25).

[0031] Eine schwere Hypokalzämie (niedrigster ionisierter Serum-Calciumlevel von 0,55 mMol/l), kompliziert durch einen Zeitraum eines funktionalen 2:1 atrioventikularen Blocks (korrigierte QT-Zeit: 0,54 Sekunden) in Kombination mit Hypertension entwickelte sich nach Reanimation und Wiederherstellung von Kreislauf und Gasaustausch.

[0032] Der erste Versuch zur Unterbrechung der NO-Inhalation wurde 40 Stunden nach Beginn dieser Behandlung durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt waren Elektrolyt- und Säure-Base-Störungen korrigiert und der FIO_2 erfolgreich auf 2,05 reduziert worden. Der Test der Unterbrechung wurde während gleichzeitiger Echokardiographieüberwachung durchgeführt. Während einer noch erfolgenden Verabreichung von 5 ppm NO wurde eine Verringerung der Trikuspidal-Insuffizienz und einer Abnahme in der maximalen Druckdifferenz zwischen dem rechten Ventrikel und Atrium (35 mmHg) festgestellt. Das Geschwindigkeitsprofil der Pulmonalarterie zeigte nicht länger eine offensichtliche Stufenform und das PEP/AT hatte sich normalisiert (0,8). Der Ductus Arteriosus war geschlossen. Keine Veränderung im Gasaustausch oder echokardiographi-schen Parametern erschienen innerhalb von 15 Minuten nach Unterbrechung der NO-Inhalation. Da eine signifikante Pulmonalhypertension immer noch evident war, wurde entschieden die NO-Inhalation für weitere 12 Stunden fortzuführen. Während dieses Zeitraums war es möglich den FIO_2 weiter auf 0,21 zu verringern. Als keine Verschlechterung des Gasaustausches während eines zweiten Unterbrechungstests nachgewiesen konnte, wurde die NO-Behandlung beendet. 5 Stunden später konnte die Dopamin-Infusion unterbrochen werden

[0033] Während des gesamten Zeitraums war keine andere Pulmonalpathologie als die linksseitige pulmonale Hypoplasie auf wiederholen Bruströntgenbildern zu erkennen. Bei einer Nachfolge-Echokardiographie später in der Erholungsphase konnte eine restriktive, perimembranöse VSD mit einem angenommenen Peak-Gradienten von 30 mmHg identifiziert werden.

[0034] Das Kind wurde 5 Tage später extubiert und 3 Wochen später aus dem Krankenhaus entlassen.

Plasma S-Nitrosoproteinkonzentrationen

a) Plasmakonzentrationen von S-Nitrosoprotein waren 5,9 µMol nach 30 Minuten von inhaliertem NO-Gas 5 ppm.
b) Plasmakonzentrationen von S-Nitrosoprotein fielen nach der Unterbrechung von inhaliertem NO; die Konzentrationen betrugen 5,3 µMol 30 Minuten nach Beendigung der Inhalation von NO.
c) Plasmakonzentrationen waren 2,1 µMol 120 Minuten nach der Unterbrechung der NO-Inhalation.

[0035] Diese Daten zeigen dass inhaliertes NO-Gas in einem Pool oder einem Reservoir an Plasma (Blut) S-Nitrosoproteinen resultiert, das über die Zeit nach der Unterbrechung der NO-Verabreichung abnimmt.

Beispiel 3

Materialien und Methoden

[0036] Die Untersuchung wurde durch das Komitee für menschliche Ethik der Universität Uppsala genehmigt, als auch dem schwedischen Büro für die Regulation von Medikamentenangelegenheiten. Insgesamt 31 auf 4 Gruppen aufgeteilte Erwachsene wurden untersucht, manchmal bei verschiedenen Anlässen, wie nachfolgend genauer angegeben.
Gruppe 1: Nicht-rauchende, hyperreaktive Probanden (n = 6), mittleres Alter 39 ± 9 Jahre, 1 Mann und 5 Frauen.
Gruppe 2: Nicht-rauchende, hyperreaktive Probanden (n = 6), mittleres Alter 31 ± 10 Jahre, 3 Männer und 3 Frauen. Hyperreaktivität wurde als Abnahme der Atemwegsleitung nach einem Metacholin-Provokationstest einige wenige Tage vor der Untersuchung definiert. Die Probanden nahmen keine Medikamente als Prophylaxe oder als Teil einer Behandlung.
Gruppe 3: Patienten (n = 6) mit der Diagnose einer chronischen Bronchitis in stabilem Zustand, in kontinuierlicher medikamentöser Behandlung, mit einem Gas weniger als 1,2 (kPa), einem mittleren Alter von 56 ± 12 Jahren, 3 Männer und 3 Frauen.
Gruppe 4: Patienten (n = 10) mit der Diagnose von Asthma in stabilem Zustand und unter kontinuierlicher medikamentöser Behandlung, mit einem Gas weniger als 1,2 (kPa), einem mittleren Alter von 41 + 11 Jahren, 7 Männer und 3 Frauen.

Mischen, Verabreichen und Überwachen von eingeatmetem Gas einschließlich NO

[0037] Während der Untersuchung saß der Proband in der Körperphletismographie, trug einen Nasenclip und war über ein Mundstück mit einem Nichtrückatmungskreislauf verbunden, bestehend aus einem 10 L Reservoirbeutel und Einwegventilen, um eingeatmetes von ausgeatmetem Gas zu isolieren. Das eingeatmete Gas war eine Mischung aus O_2 und N_2, um die korrekte eingeatmete O_2-Fraktion (FIO_2) zu erzeugen. Der FIO_2 wurde kontinuierlich mit einem Beckman O_2-Analysator (OM11, Beckman Instruments AB, Stockholm,

Schweden) überwacht und während der Untersuchung bei 21% O_2 gehalten. Unter Verwendung volumetrisch kalibrierter Durchflußmeßgeräte ersetzten unterschiedliche Mengen mit N_2 gemischtes NO reines N_2, um die gewünschte eingeatmete NO-Konzentration bei einem konstanten FIO_2 von 21% zu erhalten. Das eingeatmete Gas wurde durch einen Behälter mit Natriumkalk geleitet, der nahe dem Einwegventil plaziert war, um den NO_2-Gehalt zu absorbieren und dadurch zu minimieren. NO in N_2 wurde von AGA-Spezialgas (Lidingo, Schweden) als Mischung von 240 ppm NO in reinem N_2 bezogen. Eine Chemilumineszenzanalyse (Modell 8841, Monitor Labs, Englewood, CO) zeigte die gewünschte NO-Konzentration als 80 ppm ± 5% mit NO_2 in dieser Mischung, wobei das NO_2 nach dem Absorptionsbehälter bei weniger als 0,3 ppm lag.

Plasma S-Nitrosoproteinkonzentrationen

[0038] Zeitabhängige Zunahme von Plasma S-Nitrosoproteinen vor inhaliertem NO.

a) vor inhaliertem NO-Gas, Plasmalevel = 2,5 µMol

b) nach inhaliertem NO-Gas, Plasmalevel = 3,46 µMol

[0039] Diese Daten zeigen, dass inhaliertes NO-Gas in einer Akkumulation eines Pools oder einem Reservoir von Stickoxid Plasma (Blut) S-Nitrosoprotein im systemischen Blutstrom auf Inhalationsverabreichung von NO resultiert.

Patentansprüche

1. Verwendung von gasförmigem Stickoxid (NO) zur Herstellung eines Pharmazeutikums zur systemischen Behandlung systemischer Blutplättchenaggregation und -koagulation über den Inhalationsweg.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

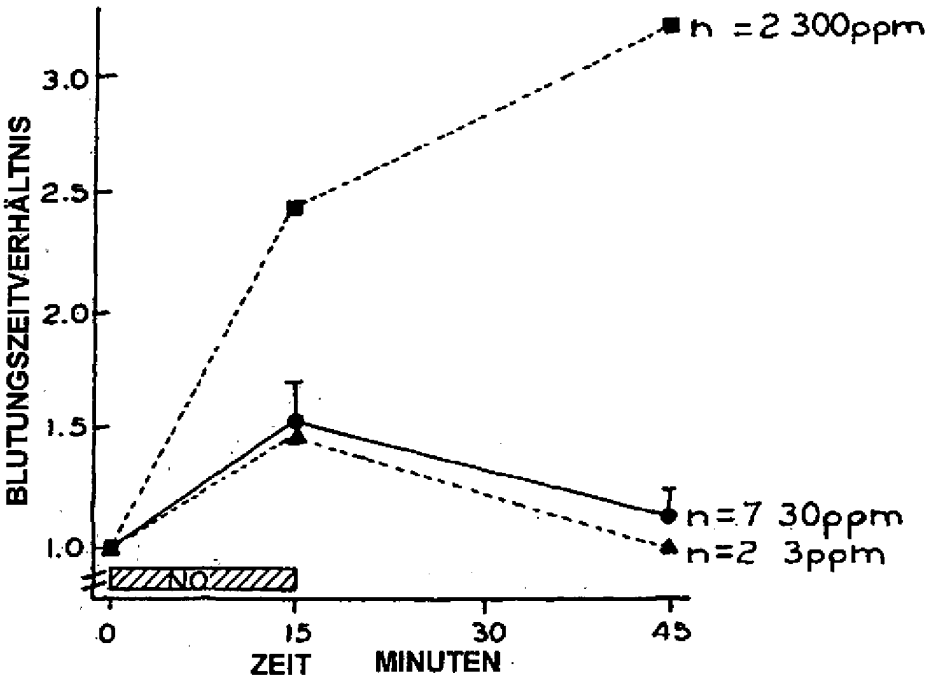


FIG. 1