

ÉVALUATION DE
LA VALEUR THÉRAPEUTIQUE
DU MONOXYDE D'AZOTE (NO)
EN INHALATION

par

Éric Troncy

Thèse de doctorat effectuée en cotutelle

au

Département d'anesthésie-réanimation
Faculté de Médecine
Université de Montréal

ET

Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Pharmacologie
et de Physiopathologie Cellulaires
Université Louis Pasteur – Strasbourg I

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures de l'Université de Montréal
en vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)
en sciences biomédicales

Juin 1998

© Éric Troncy, 1998



W
4
U58
1999
v. 105

EVALUATION DE
LA VALEUR THERAPEUTIQUE
DU MONOCYTE D'ACTE (MO)
EN INHALATION

par

Dr. Tomy

Tous les droits réservés en cas de

re

de

Département d'investissements
Faculté de Médecine
Université de Montréal

et

Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Pharmacologie
et de Pharmacologie Cellulaire
Université Laval - Québec

Il est présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université de Montréal
en vue de l'obtention du grade de l'Université de Montréal (M. Sc.)
en pharmacologie

juin 1999

E-123456789

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

ET

Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Pharmacologie
et de Physiopathologie Cellulaires
Université Louis Pasteur – Strasbourg I

Cette thèse intitulée :

Évaluation de la valeur thérapeutique du monoxyde d'azote (NO) en inhalation

présentée et soutenue à l'Université de Montréal par :

Éric Troncy

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Président-rapporteur et membre du jury	Dr Rémy SAUVÉ, <i>Ph.D.</i>
Directeur de recherche (Université de Montréal)	Dr Gilbert BLAISE, M.D.
Codirectrice (Université de Montréal)	Dre Sophie CUVELLIEZ, D.M.V, M.Sc.
Directeur de recherche (Université Louis Pasteur – Strasbourg I)	Prof Jean-Claude STOCLET, <i>Ph.D.</i>
Membre du jury	Dr Jean-Jacques HELWIG, <i>Ph.D.</i>
Examineur externe	Dr Olivier LESUR, M.D.
Représentant du doyen de la FES	Dr Jean BUTTHIEU, M.D.

Thèse acceptée le : 1999 / 02 / 04

SOMMAIRE

Le *Limulus* (*Xiphosura polyphemus*), un Arthropode marin dont l'origine remonte à plus de 500 millions d'années, présente des hémocytes circulants dont les propriétés immunologique et hémostatique sont gouvernées par le monoxyde d'azote (NO). La capacité de synthèse du NO est même un critère d'évolution des espèces biologiques. L'Homme contemporain est lui exposé au NO gazeux depuis plusieurs dizaines d'années puisque ce dernier est reconnu comme polluant atmosphérique (principalement issu des gaz d'échappement) et constituant important de la fumée de cigarette. L'utilisation expérimentale du NO inhalé date seulement du début de la présente décennie, mais elle a révélé son caractère unique de vasodilatateur pulmonaire sélectif. L'enthousiasme qui en a suivi, a renouvelé l'image du NO, de polluant à médicament, et conduit à l'essai du NO inhalé dans une myriade de modèles expérimentaux et d'applications thérapeutiques. En testant l'efficacité du NO inhalé sur un modèle porcin de vasoconstriction pulmonaire hypoxique, nous avons observé ses facultés d'anti-hypertenseur pulmonaire sélectif et d'oxygénateur. Le NO présente aussi des propriétés anti-vasotrophique, vasoplastique, pro- et anti-inflammatoires par interaction avec les cellules circulantes sanguines. La fixation du NO inhalé sur les érythrocytes est aussi vraisemblablement à l'origine d'effets extra pulmonaires tels ceux que nous avons décrits sur l'hémodynamie rénale de Porcs anesthésiés et ventilés. La présentation d'une telle multiplicité d'action a soutenu l'utilisation du NO inhalé au cours du syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) de l'adulte, pathologie complexe dont le taux de mortalité demeure élevé aux alentours de 50%.

Par la réalisation d'une étude pilote, randomisée avec groupe contrôle, nous tenions à évaluer l'efficacité du NO inhalé sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité des patients atteints de SDRA. Deux groupes homogènes de quinze individus, soumis aux traitements usuels seuls ou auxquels s'ajoutait le NO inhalé, ont permis, grâce à une standardisation des protocoles minimisant les interférences et à l'établissement d'une dose quotidienne optimale de NO inhalé sur l'oxygénation, d'établir avec certitude que : le NO inhalé améliore initialement l'hémodynamie pulmonaire et les échanges gazeux des patients

souffrant de SDRA ; mais cette amélioration est temporaire puisqu'après 24 heures, on n'observe plus de différence entre les groupes contrôle et expérimental sur les paramètres testés ; le NO inhalé n'influence pas non plus significativement la morbidité (tendance à diminuer la durée de ventilation mécanique, 40% des patients traités au NO inhalé étaient vivants et sevrés de respiration artificielle 30 jours après la randomisation *vs.* 33% dans le groupe contrôle), ni la mortalité. Toutefois, notre échantillon de patients était issu d'une population de SDRA établi, d'origine septique et, dans ces conditions, l'efficacité du NO inhalé peut être moindre en comparaison d'une administration plus précoce ou lorsque le SDRA est d'origine pulmonaire directe ; par ailleurs, il s'avère que le NO inhalé pourrait être un indicateur utile du devenir du patient en fonction de la réponse initiale de ce dernier au traitement (80% des non-répondeurs sont morts *vs.* 50% pour les répondeurs au NO) ; finalement, le NO inhalé, dans des conditions définies (système d'administration et de monitoring si nécessaire, dose optimale quotidienne) peut être utilisé sans risque direct et apparent de toxicité (faible production de dioxyde d'azote toxique, de méthémoglobine, absence de phénomène rebond à l'arrêt du traitement).

Il résulte de cet essai clinique et des résultats d'études multicentriques publiés récemment que le NO inhalé est en train de trouver sa place dans le SDRA, non pas comme agent thérapeutique miracle mais comme adjuvant d'une optimisation thérapeutique axée sur la minimisation des dommages iatrogéniques et sur la modulation de l'inflammation. Par ailleurs, l'évolution technologique, telle que présentée dans ce travail, offre aujourd'hui des systèmes d'administration et de suivi performants et fiables qui ouvrent les portes à une utilisation accrue du NO inhalé dans le futur, en soins intensifs néonataux, pédiatriques et adultes, ainsi qu'en chirurgie cardio-thoracique particulièrement dans le domaine de la transplantation.

MOTS CLEFS :

Monoxyde d'azote, inhalation ; Administration et dosage ; Analyse ; Métabolisme ; Pharmacologie ; Physiologie ; Toxicologie ; Utilisation expérimentale animale, hypertension pulmonaire ; Porc ; Utilisation thérapeutique, syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte.

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire.	ii
Mots clefs.	iv
Table des matières.	v
Liste des tableaux.	xix
Liste des figures.	xvii
Liste des sigles et abréviations.	xx
Dédicace.	xxvii
Remerciements.	xxviii
Introduction.	1

Première partie

TECHNOLOGIE DE L'ADMINISTRATION ET DU MONITORING DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	6
--	----------

Chapitre 1

REVUE DE LITTÉRATURE

1.0 ASPECTS TECHNIQUES DE L'ADMINISTRATION ET DU MONITORING DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.....	8
1.1 CYLINDRES DE MONOXYDE D'AZOTE GAZEUX.	10
1.2 TECHNIQUES D'ADMINISTRATION DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	10
1.2.1 <i>À l'entrée air / gaz du respirateur mécanique.</i>	11
1.2.2 <i>Sur la branche inspiratoire.</i>	12
1.2.2.a Administration continue de NO inhalé.	12
1.2.2.b Administration intermittente de NO inhalé.	13
1.3 SPÉCIFICATIONS DE L'ADMINISTRATION DE MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	14
1.3.1 <i>Avec une machine à anesthésie.</i>	14
1.3.2 <i>Pour patients non-intubés en respiration spontanée.</i>	14
1.4 MONITORING DU NO ET DU NO ₂ INHALÉS.	15
1.4.1 <i>Appareils à chimiluminescence.</i>	15
1.4.2 <i>Appareils à électrochimie.</i>	16
1.5 TRAPPEURS D'OXYDES D'AZOTE ET ENVIRONNEMENT DE LA PIÈCE.	18
1.5.1 <i>Trappeurs d'oxydes d'azote.</i>	18
1.5.2 <i>Environnement de la pièce.</i>	18
1.6 CONCLUSIONS.	19
1.7 REMERCIEMENTS.	19
1.8 RÉFÉRENCES.	19
1.9 ANNEXE - Liste des manufacturiers.	21
1.9.1 <i>Cylindres de NO gazeux.</i>	21
1.9.2 <i>Systèmes d'administration de NO inhalé.</i>	22
1.9.3 <i>Trappeurs de NO et/ou NO₂.</i>	22
1.9.4 <i>Moniteurs à NO et/ou NO₂.</i>	23

Chapitre 2

ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

2.0 COMPARAISON DE DEUX TECHNIQUES D'ADMINISTRATION DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ SUR LA PRODUCTION DE DIOXYDE D'AZOTE (NO₂).....	25
2.1 INTRODUCTION.	26
2.2 MÉTHODOLOGIE.	27
2.2.1 <i>Système classique d'administration.</i>	27
2.2.2 <i>Nouveau système d'administration.</i>	27
2.2.3 <i>Description du protocole.</i>	27
2.2.4 <i>Analyses statistiques.</i>	28
2.2.5 <i>Sécurité.</i>	28
2.2.6 <i>Temps de contact entre NO et O₂.</i>	28
2.3 RÉSULTATS.	29
2.4 DISCUSSION.	30
2.5 RÉFÉRENCES.	31
3.0 EFFETS DES AGENTS RÉDUCTEURS ET DE LA TEMPÉRATURE SUR LA CONVERSION DES NITRITES (NO₂⁻) ET NITRATES (NO₃⁻) EN MONOXYDE D'AZOTE ET DÉTECTION DU NO PAR CHIMILUMINESCENCE.	32
3.1 INTRODUCTION.	33
3.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES.	34
3.2.1 <i>Réactifs.</i>	34
3.2.2 <i>Recouvrement à partir de la solution aqueuse.</i>	34
3.2.3 <i>Recouvrement à partir du plasma.</i>	34
3.2.4 <i>Analyses statistiques.</i>	35
3.3 RÉSULTATS.	35
3.3.1 <i>Effet de différents agents réducteurs sur la conversion de NO₂⁻ en NO à 20° C.</i>	35
3.3.2 <i>Effet de la température sur la conversion de 400 pmoles de NO₂⁻ en NO.</i>	35
3.3.3 <i>Effet de différents agents réducteurs sur la conversion de NO₃⁻ en NO à 80° C.</i>	35
3.3.4 <i>Effet de la température sur la conversion de 400 pmoles de NO₃⁻ en NO.</i>	35
3.3.5 <i>Recouvrement à partir du plasma.</i>	35
3.4 DISCUSSION.	36
3.5 RÉFÉRENCES.	38

Chapitre 3

DISCUSSION

4.0	MISE À JOUR.	40
4.1	ASPECTS LÉGAUX.	40
4.2	SYSTÈMES D'ADMINISTRATION DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	42
4.2.1	<i>Résumé.</i>	42
4.2.2	<i>Lettre à l'éditeur.</i>	44
4.3	MONITEURS DE NO / NO ₂ .	49
4.3.1	<i>Systèmes à réponse lente.</i>	49
4.3.2	<i>Systèmes à réponse rapide.</i>	49
4.4	TRAPPEURS À NO / NO ₂ ET SÉCURITÉ DE L'ENVIRONNEMENT.	50
4.4.1	<i>Production de NO₂ dans un système d'administration de NO.</i>	50
4.4.2	<i>Lettre à l'éditeur.</i>	52
4.4.3	<i>Sécurité de l'environnement.</i>	55
4.5	MODIFICATIONS MINEURES.	56
4.6	CONCLUSIONS.	57

Deuxième partie

UTILISATION EXPÉRIMENTALE ANIMALE ET CLINIQUE HUMAINE DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ	58
---	-----------

Chapitre 4

REVUE DE LITTÉRATURE

5.0 APPLICATIONS CLINIQUES, INDICATIONS ET TOXICOLOGIE DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	60
5.1 INTRODUCTION.	62
5.2 BIOCHIMIE.	62
5.3 APPLICATIONS CLINIQUES DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ	63
5.3.1 <i>Hypertension pulmonaire.</i>	63
5.3.2 <i>Hypoxémie.</i>	63
5.3.3 <i>Inflammation et œdème pulmonaire.</i>	64
5.3.3.a Activité anti-inflammatoire de NO.	64
5.3.3.b Activité pro-inflammatoire de NO.	65
5.3.3.c Sites d'action du NO inhalé dans l'inflammation.	65
5.3.4 <i>Effets extra pulmonaires du monoxyde d'azote inhalé.</i>	66
5.3.4.a Effets cardio-vasculaires du NO inhalé.	66
5.3.4.b Effets plaquettaires du NO inhalé.	66
5.3.4.c Effets rénaux du NO inhalé.	66
5.4 INDICATIONS THÉRAPEUTIQUES DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	66
5.4.1 <i>Patients pédiatriques.</i>	66
5.4.1.a Hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né.	66
5.4.1.b Hernie diaphragmatique congénitale.	66
5.4.1.c Anomalie congénitale cardiaque.	67
5.4.2 <i>Chirurgie cardiaque / pulmonaire.</i>	67
5.4.3 <i>Hypertension pulmonaire primaire.</i>	67
5.4.4 <i>Maladie pulmonaire obstructive chronique et fibrose pulmonaire.</i>	67
5.4.5 <i>Maladie bronchospastique.</i>	67
5.4.6 <i>Syndrome de détresse respiratoire aiguë.</i>	67
5.5 INDICATIONS DIAGNOSTIQUES DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ.	70
5.5.1 <i>Diagnostic de la réversibilité de l'hypertension pulmonaire.</i>	70
5.5.1.a Avant la transplantation cardiaque.	70
5.5.1.b Après la transplantation cardiaque néonatale.	70
5.5.2 <i>Détermination de la capacité de diffusion au niveau de la membrane alvéolo-capillaire.</i>	70
5.5.3 <i>Monoxyde d'azote exhalé.</i>	70
5.6 TOXICOLOGIE.	71
5.6.1 <i>Toxicité aiguë du monoxyde et du dioxyde d'azote.</i>	71
5.6.2 <i>Santé et standards de sécurité.</i>	71
5.6.3 <i>Toxicité spécifique au dioxyde d'azote.</i>	71
5.6.4 <i>Toxicité potentielle spécifique du monoxyde d'azote inhalé.</i>	71
5.7 CONCLUSION.	72
5.8 REMERCIEMENTS.	72
5.9 RÉFÉRENCES.	72

Chapitre 5

ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

6.0	ÉTUDES EXPÉRIMENTALES ANIMALES.....	78
6.1	COMPARAISON DES EFFETS DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ ET DE LA NITROGLYCÉRINE INTRAVEINEUSE DANS UN MODÈLE D'HYPERTENSION PULMONAIRE INDUITE PAR L'HYPOXIE CHEZ LE PORC.	78
6.1.1	<i>Introduction.</i>	79
6.1.2	<i>Méthodologie.</i>	80
6.1.2.a	Animaux.	80
6.1.2.b	Instrumentation.	80
6.1.2.c	Design expérimental.	80
6.1.2.d	Analyse statistique.	81
6.1.3	<i>Résultats.</i>	81
6.1.4	<i>Discussion.</i>	82
6.1.5	<i>Références.</i>	85
6.2	EFFETS EXTRA PULMONAIRES DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ CHEZ LE PORC TÉMOIN OU TRAITÉ PAR LA PHÉNYLÉPHRINE.....	88
6.2.1	<i>Introduction.</i>	89
6.2.2	<i>Matériel et méthodes.</i>	89
6.2.2.a	Administration de la nitroglycérine intraveineuse.	90
6.2.2.b	Administration du monoxyde d'azote inhalé.	90
6.2.2.c	Monitoring rénal.	90
6.2.2.d	Mesure des NO _x ⁻ plasmatique et urinaire.	91
6.2.2.e	Variables cardio-respiratoires.	91
6.2.2.f	Analyse des données.	91
6.2.3	<i>Résultats.</i>	92
6.2.3.a	Section contrôle.	92
6.2.3.b	Section expérimentale.	94
6.2.4	<i>Discussion.</i>	94
6.2.4.a	Groupe B (phényléphrine seule).	94
6.2.4.a.α	Effets cardio-vasculaires.	94
6.2.4.a.β	Effets rénaux.	94
6.2.4.a.γ	Effets métaboliques.	94
6.2.4.b	Groupe C (NO inhalé seul).	94
6.2.4.b.α	Transport d'EDRF / NO.	95
6.2.4.b.β	Effets rénaux.	95
6.2.4.b.γ	Effets métaboliques.	95
6.2.4.c	Section expérimentale (phényléphrine + traitement).	95
6.2.4.c.α	Effets cardio-vasculaires.	95
6.2.4.c.β	Effets rénaux.	96
6.2.4.c.γ	Effets métaboliques.	96
6.2.5	<i>Remerciements.</i>	97
6.2.6	<i>Références.</i>	97
7.0	ÉTUDE CLINIQUE HUMAINE SUR L'EFFICACITÉ DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ SUR LA FONCTION PULMONAIRE, LA MORBIDITÉ ET LA MORTA- LITÉ DES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE DÉTRESSE RESPIRA- TOIRE AIGUË.....	99
7.1	LETTRE DE RECHERCHE : DOIT-ON TRAITER LE SYNDROME DE DÉTRESSE RESPIRATOIRE AIGUË AVEC LE MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ ?	100

7.2 ARTICLE ORIGINAL : MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ DANS LE SYNDROME DE DÉTRESSE RESPIRATOIRE AIGUË - UNE ÉTUDE PILOTE RANDOMISÉE AVEC GROUPE CONTRÔLE.....	102
7.2.1 <i>Introduction.</i>	103
7.2.2 <i>Méthodologie.</i>	104
7.2.2.a Protocole expérimental.	104
7.2.2.b Administration du NO inhalé.	104
7.2.2.c Détermination de la dose optimale de NO.	104
7.2.2.d Détermination de la dose optimale initiale de NO.	104
7.2.2.e Détermination de la dose optimale journalière de NO.	104
7.2.2.f Sevrage du NO inhalé.	104
7.2.2.g Réintroduction du NO inhalé.	104
7.2.2.h Analyse statistique.	104
7.2.3 <i>Résultats.</i>	105
7.2.3.a Patients.	105
7.2.3.b Effets initiaux du NO inhalé.	105
7.2.3.c Effets suivis dans le temps.	105
7.2.3.d Taux de survie, durée de respiration artificielle et taux de succès thérapeutique.	105
7.2.4 <i>Discussion.</i>	106
7.2.5 <i>Remerciements.</i>	107
7.2.6 <i>Références.</i>	107

Chapitre 6

DISCUSSION

8.0	MISE À JOUR DES DONNÉES EXPÉRIMENTALES.....	110
8.1	RÉSUMÉ.....	110
8.1.1	<i>NO inhalé, un vasodilatateur pulmonaire sélectif.....</i>	110
8.1.1.a	Effet anti-hypertenseur pulmonaire du NO inhalé.....	110
8.1.1.b	Effet sur l'oxygénation du NO inhalé.....	114
8.1.2	<i>Métabolisme du NO inhalé.....</i>	115
8.1.3	<i>Effets extra pulmonaires du NO inhalé.....</i>	119
8.1.3.a	Effets sur les cellules circulantes sanguines.....	119
8.1.3.b	Effets cardio-vasculaires.....	123
8.1.3.c	Effets rénaux.....	123
8.1.4	<i>NO inhalé et inflammation pulmonaire.....</i>	124
8.2	FUTURES DIRECTIONS.....	126
9.0	SYNDROME DE DÉTRESSE RESPIRATOIRE AIGUË.....	132
9.1	SIGNES CLINIQUES.....	132
9.2	DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES.....	133
9.2.1	<i>Devenir des patients atteints de SDRA.....</i>	133
9.2.2	<i>Incidence, étiologie et facteurs de risques du SDRA.....</i>	136
9.2.3	<i>Facteurs pronostiques du SDRA.....</i>	138
9.3	PATHOGÉNIE.....	140
9.3.1	<i>Homéostasie tissulaire et réponse de défense de l'hôte.....</i>	140
9.3.2	<i>Réponse de défense de l'hôte dans le SDRA.....</i>	145
9.4	TRAITEMENT.....	149
9.4.1	<i>Stratégie ventilatoire pour le SDRA.....</i>	149
9.4.1.a	Bases de la stratégie ventilatoire.....	150
9.4.1.b	Stratégies ventilatoires non conventionnelles.....	154
9.4.2	<i>Traitement pharmacologique du SDRA.....</i>	156
9.4.2.a	Mesures thérapeutiques générales.....	156
9.4.2.b	Modulation de la réponse de défense de l'hôte.....	159
9.4.2.b.α	<i>Thérapeutiques pharmacologiques « conventionnelles ».....</i>	160
9.4.2.b.β	<i>Thérapeutiques pharmacologiques d'avenir.....</i>	160
9.5	MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ ET SYNDROME DE DÉTRESSE RESPIRATOIRE AIGUË.....	167
9.5.1	<i>Effets secondaires potentiels du NO inhalé dans le SDRA.....</i>	169
9.5.2	<i>Dose optimale de NO inhalé et moment de l'intervention.....</i>	172
9.5.3	<i>Non-répondeurs au NO inhalé.....</i>	174
9.5.3.a	Résumé.....	174
9.5.3.b	Lettre à l'éditeur.....	178
9.5.4	<i>Impact du NO inhalé sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité du SDRA.....</i>	185
9.5.5	<i>Conclusions.....</i>	187

Chapitre 7

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

**10.0 PLACE DU MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ DANS LA THÉRAPEUTIQUE DU
TROISIÈME MILLÉNAIRE. 197**

Bibliographie...200

LISTE DES TABLEAUX

	<i>Page</i>	
<i>Chapitre 1</i>		
Premier article (<i>Critical Care Medicine</i> 1998; 26: 782-796)		
Tableau I : Comparaison des appareils de mesure des oxydes d'azote par chimiluminescence et électrochimie.....	15	
Tableau II : Propriétés d'absorption de monoxyde et dioxyde d'azote de différents produits	17	
 <i>Chapitre 2</i>		
Troisième article (<i>Clinical Chemistry</i> 1997; 43: 657-662)		
Tableau I : Effet de différents agents réducteurs sur la conversion de NO ₂ ⁻ en NO à 20° C	35	
Tableau II : Effet de différents agents réducteurs sur la conversion de NO ₃ ⁻ en NO à 80° C	36	
 <i>Chapitre 3</i>		
Tableau I : Recommandations de la <i>Food and Drug Administration</i> (FDA) Américaine en date du 22 novembre 1996.....		41
 <i>Chapitre 4</i>		
Sixième article (<i>Canadian Journal of Anæsthesia</i> 1997; 44: 973-988)		
Tableau I : Données disponibles sur le traitement du SDRA par le NO inhalé.....	69	

Chapitre 5

Septième article (*European Journal of Anaesthesiology* 1996; 13: 521-529)

Tableau I : Effet de l'hypoxie et de son traitement par le NO inhalé ou la nitroglycérine intraveineuse sur les variables hémodynamiques pulmonaires et systémiques chez des Porcs anesthésiés82

Tableau II : Effet de l'hypoxie et de son traitement par le NO inhalé ou la nitroglycérine intraveineuse sur les variables d'échanges gazeux chez des Porcs anesthésiés83

Huitième article (*British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 631-640)

Tableau I : Design expérimental de l'étude.....90

Tableau II : Effet de la phényléphrine et de son traitement par le NO inhalé ou la nitroglycérine intraveineuse sur les variables hémodynamiques pulmonaires et systémiques chez des Porcs anesthésiés.....93

Tableau III : Concentrations plasmatiques de nitrites et nitrates lors d'hypertension induite par la phényléphrine et de son traitement par le NO inhalé ou la nitroglycérine intraveineuse chez des Porcs anesthésiés.....93

Dixième article (*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 157: 1 483-1 488)

Tableau I : Caractéristiques cliniques des patients randomisés dans les groupes contrôle et expérimental (NO inhalé) 105

Tableau II : Effets initiaux hémodynamiques et respiratoires du NO inhalé 105

Tableau III : Comparaison de l'évolution de la fonction pulmonaire entre les groupes contrôle et expérimental (NO inhalé)..... 106

Chapitre 6

Tableau II : Effets anti-inflammatoires potentiels du monoxyde d'azote.....	125
Tableau III : Effets secondaires possibles de l'hypercapnie permissive.....	129
Tableau IV : Classification clinique du syndrome de détresse respiratoire aiguë.....	134
Tableau V : Principales étiologies du syndrome de détresse respiratoire aiguë.....	137
Tableau VI : Marqueurs potentiels du développement d'un LPA / SDRA	141
Tableau VII : Composantes de la réponse de défense de l'hôte	143
Tableau VIII : Réponse de défense de l'hôte et issue du SDRA	146
Tableau IX : Traitement pharmacologique anti-inflammatoire du SDRA.....	161

LISTE DES FIGURES

	<i>Page</i>
<i>Introduction</i>	
Figure 1. Monoxyde d'azote : gaz toxique ou thérapeutique ?	2
<i>Chapitre 1</i>	
Premier article (<i>Critical Care Medicine</i> 1998; 26: 782-796)	
Figure 1. Systèmes d'administration du monoxyde d'azote inhalé au niveau de l'entrée de gaz du ventilateur mécanique	11
Figure 2. Systèmes d'administration du monoxyde d'azote inhalé sur la Branche inspiratoire	12
<i>Chapitre 2</i>	
Deuxième article (<i>Canadian Journal of Anæsthesia</i> 1995; 42: 922-927)	
Figure 1. Système classique d'injection du monoxyde d'azote inhalé	27
Figure 2. Nouveau système d'injection du monoxyde d'azote inhalé	27
Figure 3. Diagramme de mélange des gaz pour les deux systèmes d'injection, classique et nouveau	28
Figure 4. Courbe de la production de dioxyde d'azote en fonction de la concentration de monoxyde d'azote pour les systèmes d'injection classique et nouveau, avec une FiO_2 de 0,90	29
Figure 5. Graphe à barres de la production de dioxyde d'azote en fonction de la concentration de monoxyde d'azote pour les systèmes d'injection classique et nouveau avec une FiO_2 de 0,90	29

Figure 6. Courbe de la production de dioxyde d'azote en fonction de la concentration de monoxyde d'azote pour les systèmes d'injection classique et nouveau, avec une FiO_2 de 0,2130

Figure 7. Graphe à barres de la production de dioxyde d'azote en fonction de la concentration de monoxyde d'azote pour les systèmes d'injection classique et nouveau avec une FiO_2 de 0,2130

Troisième article (*Clinical Chemistry* 1997; 43: 657-662)

Figure 1. Schéma du système d'analyse34

Figure 2. Effet de la température sur la conversion de 400 pmol de NO_2^- en NO par les cinq agents réducteurs36

Figure 3. Effet de la température sur la conversion de 400 pmol de NO_3^- en NO par les cinq agents réducteurs36

Chapitre 4

Sixième article (*Canadian Journal of Anaesthesia* 1997; 44: 973-988)

Figure 1. Processus inflammatoire au niveau du vaisseau sanguin.....64

Figure 2. Résumé des voies de réactivité et de décomposition du peroxy-nitrite65

Chapitre 5

Septième article (*European Journal of Anaesthesiology* 1996; 13: 521-529)

Figure 1. Suivi des valeurs médianes de la pression artérielle pulmonaire systolique (PAPs)83

Figure 2. Suivi des valeurs médianes de la pression partielle artérielle en oxygène (PaO_2)84

Figure 3. Suivi des valeurs médianes de la pression artérielle systémique systolique (PASs)	84
--	----

Huitième article (*British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 631-640)

Figure 1. Suivi du débit sanguin rénal corrigé pour l'extraction de l'acide para-amino-hippurique.....	91
Figure 2. Suivi du taux de filtration glomérulaire.....	92
Figure 3. Suivi de la diurèse.....	92

Neuvième article (*The Lancet* 1997; 350: 111-112)

Figure 1. Comparaison des effets dans le temps (jusqu'au jour 10) du score d'hypoxie et de l'admission veineuse dans les groupes contrôle et expérimental (NO inhalé)	101
--	-----

Dixième article (*American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 157: 1 483-1 488)

Figure 1. Évolution du taux de succès thérapeutique dans les groupes contrôle et expérimental (NO inhalé)	106
--	-----

Chapitre 6

Figure 2. Effets supposés du GMPc au niveau des cellules musculaires lisses	120
--	-----

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACTH :	<i>adrenocorticotropic hormone</i> , hormone corticotrope
Ag-fvW :	antigène du facteur de von Willebrand
AMPc :	3',5'-adénosine monophosphate cyclique
APACHE :	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i> , évaluation de l'état physiologique aigu et de santé chronique
ARN :	acide ribonucléique
ATP :	adénosine triphosphate
Ca ²⁺ :	ion calcique
CC16 :	<i>Clara cell protein 16 kDa</i> , protéine de cellule de Clara d'un poids de 16 kDa
CEC :	circulation extracorporelle
<i>cf.</i> :	<i>confer</i> , reportez-vous à
Cl ⁻ :	ion chlorure
CLM :	chaîne légère de la myosine
cm :	centimètre
CO ₂ :	dioxyde de carbone, gaz carbonique
COX-2 :	enzyme cyclo-oxygénase inductible
Cu ⁺ / Cu ²⁺ :	couple cuivre ionique
DAD :	dommages alvéolaires diffus
DAG :	diacylglycérol
dl :	décilitre
DNIC :	<i>dinitrosyl iron complexe</i> , complexe dinitrosyl fer
DO ₂ :	distribution de l'oxygène

ECCO ₂ R :	<i>extracorporeal carbon dioxide removal</i> , épuration extracorporelle de dioxyde de carbone
ECMO :	<i>extracorporeal membrane oxygenation</i> , circulation extracorporelle avec oxygénateur à membrane
eg :	<i>exempli gratia</i> , par exemple
EDRF / NO :	<i>Endothelium-derived Relaxing Factor / nitric oxide</i> , facteur relaxant dérivé de l'endothélium supposé être le monoxyde d'azote
FDA :	<i>Food and Drug Administration</i> , équivalent Américain de l'Institut Européen des Médicaments
Fe ²⁺ / Fe ³⁺ :	couple fer ionique
FiNO :	fraction inspirée en monoxyde d'azote
FiNO ₂ :	fraction inspirée en dioxyde d'azote
FiO ₂ :	fraction inspirée en oxygène
FR :	fréquence respiratoire
GCs :	guanylate cyclase soluble
GM-CSF :	<i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> , facteur stimulant de colonie granulocytaire-macrophagique
GMPc :	3',5'-guanosine monophosphate cyclique
GOCA :	<i>Gas exchange, Organ failure, Cause and Associated diseases score</i> , score d'atteinte des échanges gazeux, des défaillances organiques, de leur cause et des maladies associées
GPIIb-IIIa :	glycoprotéine plaquettaire récepteur à fibrinogène
HLA-DR ⁺ :	<i>human leukocyte antigen positive D-related</i> , antigène positif-D de leucocyte humain
H ₂ O ₂ :	peroxyde d'hydrogène
H ₂ O :	eau
Hb(Fe _{II})NO, HbNO :	nitrosylhémoglobine

Hb(Fe _m) :	methémoglobine
HCO ₃ ⁻ :	bicarbonates
HNO :	nitroxyls
HNO ₂ :	acide nitreux
HNO ₃ :	acide nitrique
HOCl :	acide hypochloreux
HPPN :	hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né
HSP :	<i>heat shock proteins</i> , protéines de choc thermique
I / E :	ratio inspiratoire / expiratoire
<i>i.e.</i> :	<i>id est</i> , c'est-à-dire
IL :	interleukine
IL-1ra :	<i>interleukin-1 receptor antagonist</i> , antagoniste du récepteur de l'interleukine-1
INF-γ :	interféron gamma
IP ₃ :	1,4,5-inositol triphosphate
ISS :	<i>Injury Severity Score</i> , score d'atteinte
IVOX :	<i>intravascular oxygenator</i> , oxygénateur intravasculaire
K ⁺ _{Ca} :	canal potassique Ca ²⁺ -dépendant
kg :	kilogramme
KOH :	hydroxyde d'hydrogène
L :	litre
L-NAME :	<i>N^T-nitro-L-arginine methyl-ester</i> , <i>N^T-nitro-L-arginine-méthyl-ester</i>
L-NMMA :	<i>N^T-monomethyl-L-arginine</i> , <i>N^T-monomethyl-L-arginine</i>
LPS :	lipopolysaccharide
LBA :	lavage broncho-alvéolaire
LPA :	lésion pulmonaire aiguë

m ² :	mètre carré
mg :	milligramme
MHC :	<i>monocytic major histocompatibility complex class II</i> , complexe de classe II d'histocompatibilité majeure monocytaire
min :	minute
ml :	millilitre
mmHg :	millimètre de mercure
MOF :	<i>Multiple Organ Failure</i> , défaillance multi-organique
n = :	taille de l'échantillon
N ₂ :	azote
N ₂ O :	protoxyde d'azote
N ₂ O ₃ :	anhydride nitreux
Na ⁺ :	ion sodique
NADPH :	nicotinamide-adénine-dinucléotide phosphate, forme réduite
ND :	non disponible
-NH :	groupement amide
NMDA :	<i>N</i> -méthyl-D-aspartate
NO, NO :	monoxyde d'azote, oxyde nitrique
NO ⁺ :	cation nitrosonium, nitrosyl
NO ⁻ :	anion nitroxyl
NO ₂ , NO ₂ :	dioxyde d'azote
NO ₂ ⁻ :	nitrites
NO ₃ ⁻ :	nitrates
NO-Fe-(DETC) ₂ :	mononitrosyl-fer-diéthylthiocarbamate
NOS :	NO synthase
NOS2 :	enzyme NO synthase inductible

NO _x :	oxydes d'azote
O ₂ :	oxygène
O ₂ ⁻ :	anion superoxyde
OH :	radical hydroxyle
ONOO ⁻ :	peroxynitrite
PaCO ₂ :	pression partielle artérielle en dioxyde de carbone
PaO ₂ :	pression partielle artérielle en oxygène
PaO ₂ / FiO ₂ :	score d'hypoxie
PAP :	pression artérielle pulmonaire
PAS :	pression artérielle systémique
PC :	pression contrôlée
PDE :	phosphodiesterase
PEEP :	<i>positive end-expiratory pressure</i> , pression positive de fin d'expiration
PG :	prostaglandine
PGI ₂ :	prostacycline
pH :	<i>potential Hydrogen</i> , logarithme de la concentration d'ion hydrogène
<i>Ph.D.</i> :	<i>Philosophie Doctor</i> , Doctorat de 3 ^{ème} cycle universitaire
PiP ₂ :	phosphatidyl-inositol 4,5-diphosphate
PKG :	protéine kinase GMPc-dépendante
PMNs :	polymorphonucléaires neutrophiles
ppb :	parties-par-billion
ppm :	parties-par-million
RDH :	réponse de défense de l'hôte
RNH-NO :	<i>N</i> -nitrosamines

R-NHOH :	hydroxylamines
R=NOH :	oximes
RPE :	résonance para-électromagnétique
rpm :	respirations par minute
RS :	réticulo-sarcoplasmique
SAPS :	<i>Simplified Acute Physiology Score</i> , score simplifiée d'état physiologique aigu
SDMO :	syndrome de défaillance multi-organique
SDRA :	syndrome de détresse respiratoire aiguë
sec :	seconde
-SH :	groupement thiol, sulphydryl
SL :	sarcolemnal(e)
SNO-Hb :	S-nitrosohémoglobine
SNO-R :	S-nitrosothiols, thionitrites
SP-A :	<i>surfactant-associated protein-A</i> , protéine-A associée au surfactant
SP-B :	<i>surfactant-associated protein-B</i> , protéine-B associée au surfactant
SRAC :	syndrome de réponse anti-inflammatoire compensatrice
SRIS :	syndrome de réponse inflammatoire systémique
TNF- α :	<i>tumor necrosis factor-α</i> , facteur- α de nécrose tumorale
TGF- β :	<i>transforming growth factor-β</i> , facteur- β de croissance modifiée
U :	unité
VC :	volume contrôlé
VO ₂ :	consommation en oxygène
VPH :	vasoconstriction pulmonaire hypoxique
vs :	<i>versus</i> , en comparaison à
VT :	volume courant

® :	marque déposée
° C :	degrés Celsius
% :	pour-cent

DÉDICACE

« [...] un garçon qui étudie jusqu'à vingt ou vingt-cinq ans est un petit monsieur qui capitalise sa jeunesse au lieu d'en faire un usage normal, immédiat. »

Marcel AYMÉ (1902 – 1967), extrait de « Le Chemin des écoliers ».

À mes parents ;

Qu'ils trouvent dans ces quelques lignes l'expression de toute ma reconnaissance ; l'aboutissement de ces années d'études est un peu (beaucoup) le leur et je ne les remercierai jamais assez pour leur compréhension et leur soutien.

À mon grand-père trop tôt disparu et surtout aux grands-mères qu'il me reste ;

À Stéphanie ;

Parce que l'édifice de notre amour, avec tout ce que ce mot implique de bestialité et de sublimation, de fureur et de sacrifice, avec tout ce qu'il comporte de léger, de touchant ou de terrible, se construit chaque jour au gré des épreuves et des passions que nous rencontrons.

REMERCIEMENTS

L'auteur voudrait avant tout remercier :

Le Docteur **Gilbert BLAISE**,

pour sa direction, pour son sens de la communication, son dynamisme et son désir de réussite ; parce qu'il prêche par l'exemple, qu'il se rassure, j'ai beaucoup appris grâce à lui.

La Docteure **Sophie CUVELLIEZ**,

pour sa codirection, pour son humanisme et sa compassion.

Le Professeur **Jean-Claude STOCLET**,

pour l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté notre candidature au programme de cotutelle et pour son accueil bienveillant.

Le président **Rémy SAUVÉ** et tous les membres du jury.

Tous les membres du Laboratoire d'Anesthésie et le personnel des unités de soins intensifs du CHUM – campus Notre-Dame, en particulier Mr Martin FRANCOEUR pour son dévouement, Mme Sylvie PRUD'HOMME pour sa recherche de la perfection, le Dr Fan YANG pour nos échanges stimulants et le Dr Neil HARTMAN pour son amitié et sa spontanéité.

Tous les membres du Laboratoire de Pharmacologie et de Physiopathologie Cellulaires de l'Université Louis Pasteur – Strasbourg I, en particulier le Dr Bernard MULLER pour son assistance et son soutien.

L'Unité d'essais cliniques randomisés du Centre d'Épidémiologie clinique de l'Hôpital Général Juif de l'Université McGill, en particulier Mr Thierry DUCRUET pour son professionnalisme et sa disponibilité.

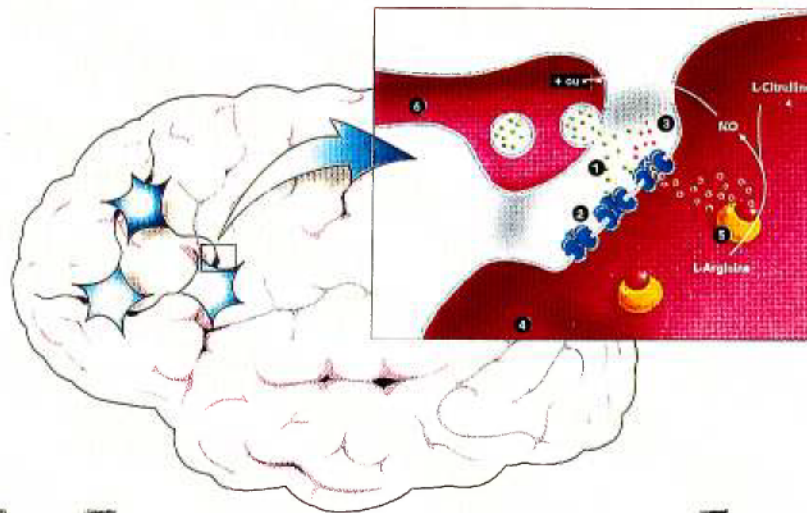
Tous les organismes qui ont bien voulu soutenir la réalisation de nos travaux : Fondation des Maladies du Cœur du Canada (bourse de formation en recherche), Conseil de Recherches Médicales du Canada (fonds MRC-MA 12425 pour essai clinique), Université de Montréal (bourse doctorale), Région Rhône-Alpes (bourse Eurodoc), Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche Française, Institut du NO Inc. et Office Franco-Québécois pour la Jeunesse (allocations d'études).

INTRODUCTION

Qu'une molécule gazeuse aussi simple (de prime abord) que le monoxyde d'azote (NO) puisse être un facteur ubiquiste des systèmes cardio-vasculaire, respiratoire, gastro-intestinal, génital, rénal, endocrinien, nerveux central et périphérique aussi bien qu'immunitaire et inflammatoire a permis une vision commune de domaines aussi divers que la physiologie, la pathologie, les neurosciences, la cancérologie et l'immunologie et une révision complète des mécanismes de communication et de défense cellulaires.⁽¹⁻⁵⁾ C'est d'ailleurs sa fixation sur le fer hémique d'une enzyme présente dans les cellules musculaires lisses et les plaquettes, la guanylate cyclase soluble (GCs), qui explique son effet vasodilatateur^(6,7) et anti-agrégant plaquettaire⁽⁸⁾ et l'idée de l'utilisation du NO inhalé comme anti-hypertenseur pulmonaire.⁽⁹⁾ De 1991 à 1994, la découverte des effets du NO inhalé a soulevé l'enthousiasme de la communauté scientifique, particulièrement chez tous ceux, Chercheurs et Médecins, intéressés à la pathologie cardio-respiratoire. En cette fin de siècle, rarement notre société aura-t'elle été aussi avide de connaissances et le NO, « victime de ses succès », n'a pas échappé à la vulgarisation scientifique (Figure 1).

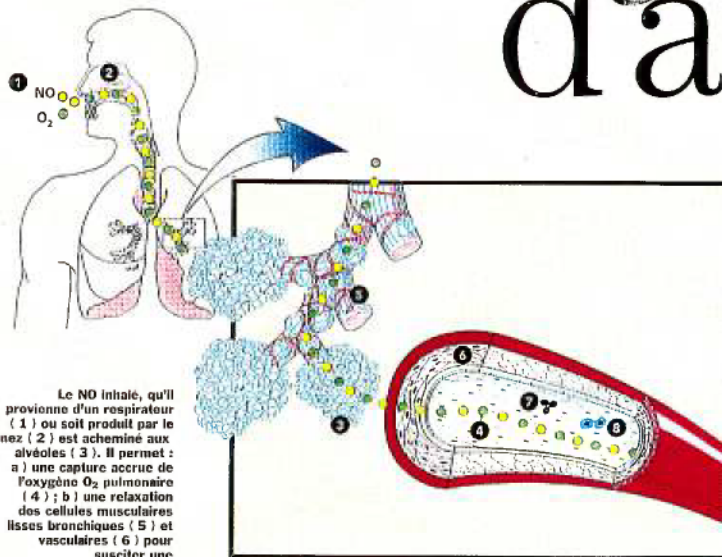
S'inscrivant dans ce contexte, la réalisation de ce programme doctoral de 1995 à aujourd'hui avait pour but (1) de posséder la maîtrise des techniques d'administration et de monitoring du NO inhalé, (2) de reproduire sur différents modèles expérimentaux porcins les effets initialement rapportés du NO inhalé et d'améliorer notre connaissance des dits effets avant (3) de passer à la phase ultime de son utilisation clinique dans le traitement du syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) de l'adulte. Une telle euphorie initiale sur les effets biologiques du NO ne pouvait pas résister à l'épreuve du temps et nous espérons modestement, avec le recul nécessaire et au fil de nos découvertes, contribuer à la réponse de cette question : Quelle est la valeur thérapeutique actuelle et à venir du NO inhalé en 1998 ?

TÊTES D'AFFICHE / PETITES ANNONCES / DÉCÈS



Le NO neuronal se produit quand le neurotransmetteur qu'est le glutamate (1) se lie au récepteur NMDA (2). Ce faisant, il ouvre le récepteur et permet aux ions calcium Ca^{2+} (3) d'entrer dans le neurone postsynaptique (4) et d'activer l'enzyme NO synthase (5) qui convertit l'acide aminé L-arginine en L-citrulline et NO. Ce dernier retourne au neurone présynaptique (6) pour augmenter ou diminuer la libération d'autres neurotransmetteurs, selon la région du cerveau impliquée.

Monoxyde d'azote



Le NO inhale, qu'il provienne d'un respirateur (1) ou soit produit par le nez (2) est acheminé aux alvéoles (3). Il permet : a) une capture accrue de l'oxygène O_2 pulmonaire (4) ; b) une relaxation des cellules musculaires lisses bronchiques (5) et vasculaires (6) pour susciter une bronchodilatation locale et une diminution de l'hypertension pulmonaire ; c) une inhibition de l'adhésion/activation des plaquettes (7) et des leucocytes (8), ayant pour but la réduction de l'inflammation pulmonaire, responsable de la mort de cellules, de l'œdème et de la production de radicaux libres toxiques.

Le Dr Gilbert Blaise, à gauche, est médecin anesthésiologiste et directeur du laboratoire d'anesthésie de l'hôpital Notre-Dame. Le Dr Eric Troncy est médecin vétérinaire.



JOCELYNE DELAGE
collaboration spéciale

En science, on assiste souvent à des revirements de situation inattendus. L'attitude face à la marijuana en est un exemple récent. Après s'être prononcé sur les effets néfastes et accoutumants de cette drogue, on nous vante soudain la possibilité de ses bienfaits, à faibles doses, comme médicament. Que dire sinon que la science a des limites que repousse jour après jour le savoir.

Dans la même veine, ces dernières années, on découvre les nombreuses vertus du monoxyde d'azote (NO). Si depuis toujours le NO est considéré comme un polluant atmosphérique des centres urbains, c'est qu'il a réagi avec l'oxygène et les métaux de transition. Mais, administré à faibles doses contrôlées, on vient de se rendre compte que le NO s'avère un outil thérapeutique des plus efficaces... Ce gaz potentiellement toxique a soudain acquis des lettres de noblesse. Bien que cette volte-face puisse faire rire, il ne faut surtout pas confondre le NO avec son cousin : le N_2O ou protoxyde d'azote, mieux connu sous le nom de gaz hilarant.

Le bon, le méchant, la brute, le truand

Si la toxicité directe du monoxyde d'azote est modeste, ce qui en fait le bon, il réagit toutefois rapidement avec l'oxygène moléculaire pour devenir méchant, c'est-à-dire former du dioxyde d'azote (NO_2), un gaz brun-rouge. Un polluant de la fumée de cigarette, du smog, des produits d'échappement des voitures, des avions, des éclairés et de certaines réactions chimiques, le NO_2 est un oxydant puissant pouvant corroder les métaux, réagir avec les plastiques et causer une altération des tissus ; lorsqu'il est inhalé en grande quantité, on dit qu'il peut endommager les poumons.

On le soupçonne aussi de contribuer à la destruction de la couche d'ozone et d'être un précurseur des pluies acides. Produit chimique nuisible et toxique, il ne vit que de six à dix secondes avant d'être converti en nitrates ou nitrites par l'oxyde et l'eau. Rappelons que l'on se sert maintenant de nitrate plutôt que de sel pour conserver la viande et lui garder sa couleur.

Voir MONOXYDE en C2

gaz toxique
OU
thérapeutique?

Un neurotransmetteur vital, tout juste découvert 3

JOCELYNE DELAGE
collaboration spéciale

La versatilité et les pouvoirs sans cesse révélés du monoxyde d'azote (NO) l'ont imposé à l'attention scientifique et lui ont valu d'être élu molécule de l'année en 1992.

Si la revue *Science* choisit de nommer une molécule de l'année, c'est parce qu'elle veut mettre l'accent sur la découverte plutôt que sur les découvreurs qui, tour à tour, ont ancré les bases d'une structure qui permettra ultimement à un chercheur donné de crier: Eureka! alors que tout le travail d'approche a été fait par d'autres.

Une des dix plus petites molécules stables de la nature, le NO sert de messager biologique chez les mammifères. Découvert il y a plus de 200 ans par le chimiste anglais Joseph Priestly, ce gaz est un radical libre qui cherche à entrer en

contact avec d'autres molécules.

Un nouveau neurotransmetteur ?

Il n'en fallait pas plus pour que certains chercheurs croient que le monoxyde d'azote pouvait être le chef de file d'une nouvelle classe de neurotransmetteurs, surtout à la suite d'études démontrant qu'il était l'une des plus importantes molécules messagères. Le NO serait le messager signalant l'augmentation de l'activité cérébrale et déclenchant la vasodilatation, en agissant sur les fibres musculaires lisses des vaisseaux sanguins. Il serait, semble-t-il, un neuromodulateur non-conventionnel, un médiateur intercellulaire.

Mais sa diffusion rapide et isotropique à travers la plupart des tissus, presque sans réaction, le démarque de la plupart des autres médiateurs intercellulaires. Com-

paré à l'acétylcholine qui ne vit que quelques millisecondes après sa libération des synapses, le NO survit pendant quelques secondes. Il ne peut toutefois se mouvoir à travers les vaisseaux car l'oxyhémoglobine le détruit rapidement. Si, comme l'oxygène moléculaire et le gaz carbonique, ce gaz hydrophobe traverse facilement les membranes, il fonctionne toutefois à l'extérieur des règles de la neurotransmission.

Contrairement aux neurotransmetteurs normaux contenus dans des vésicules synaptiques et émis à partir d'une terminaison nerveuse vers les récepteurs de la synapse adjacente, le monoxyde d'azote n'a pas de lieu d'entreposage et diffuse dans toutes les régions environnantes contenant jusqu'à plusieurs millions de synapses. Quand on a besoin de lui, il sort tout simplement de sa cellule pro-

ductrice pour aller rejoindre les enzymes enroulées au creux des cellules avoisinantes, sans foi ni loi.

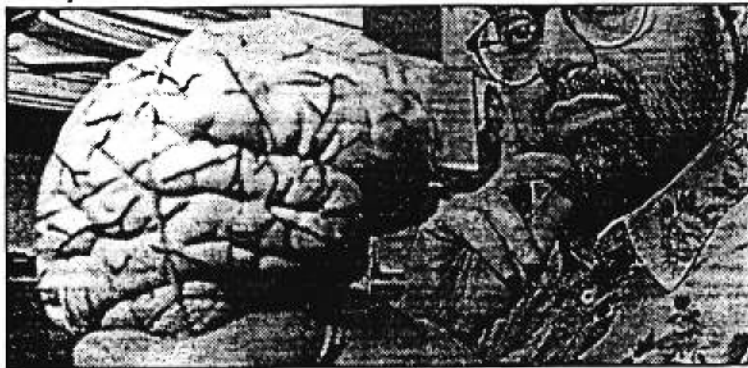
Fabriqué dans de nombreuses cellules

Le monoxyde d'azote est fabriqué dans de nombreuses cellules du corps humain, dont l'épithélium, les cellules endothéliales, les astrocytes, les lymphocytes, les macrophages, certaines terminaisons nerveuses, les voies respiratoires supérieures, les neurones, certaines terminaisons nerveuses et les cellules gliales. Mais il est aussi créé à partir de l'action de certains neurotransmetteurs dont le glutamate.

Quand un vaisseau sanguin du cerveau éclate ou se bloque, cet accident dit vasculaire cérébral ou (AVC) entraîne une importante décharge de glutamate dans la zone où il se produit.

Qu'advient-il alors du glutama-

te? Les biochimistes ont découvert son trajet. Ce neurotransmetteur, contenu dans un petit sac appelé vésicule synaptique, se libère dans l'espace synaptique, à partir d'une terminaison nerveuse, et va se lier à un des récepteurs de la synapse adjacente, ici le NMDA (N-méthyl-D-aspartate); cette liaison permet d'ouvrir la synapse et de laisser entrer des ions calcium (Ca^{2+}) qui vont alors activer la NOS. La NOS, sous l'action des ions calcium, convertit la L-arginine en L-citrulline et monoxyde d'azote. Ce dernier s'en va alors dans le neurone présynaptique où il contribue à augmenter ou à diminuer la libération d'autres neurotransmetteurs. Il sert donc de commutateur à l'activité neuronale et y joue un rôle des plus importants. À son action dans le cerveau s'ajoute son rôle primordial pour la respiration.



Le cerveau humain, là où s'active le monoxyde d'azote.

Gaz thérapeutique ?

MONOXYDE /
Suite de la page C1

Le NO devient encore plus toxique lorsqu'il entre en contact avec le superoxyde (O_2) considéré comme *brûle* (que l'on trouve dans les pathologies ischémiques), car il engendre alors du peroxy-nitrite (ONOO), ou *muand* (que l'on trouve dans les lésions athérosclérotiques).

À basse concentration, le NO est assez stable, même en présence d'oxygène. Il a cependant 3000 fois plus d'affinité pour l'hémoglobine que pour l'oxygène, ce qui le rend apte à être administré par inhalation. C'est ce qui a poussé des chercheurs à s'en servir lors de ventilation assistée.

Présence dans le corps humain

Depuis dix ans, on sait que le corps humain produit aussi du monoxyde d'azote. On connaissait bien le facteur endothélial qui relie les fibres musculaires lisses des vaisseaux (endothélium-dérivé relaxing factor, ou EDRF), mais c'est le Dr Salvador Moncada, du University College de Londres, qui a démontré en 1987 que l'EDRF était en réalité du NO. Ses recherches, basées sur celles de Robert Furchgott et Lou Ignarro lui ont permis de comprendre comment la nitroglycérine se transforme en NO, et comment

une enzyme, la NO synthase (NOS), agit sur la L-arginine (un acide aminé naturel produit par la digestion des protéines) pour en faire du NO; la NOS est présente dans de nombreux neurones (lesquels composent 15 % de nos cellules cérébrales) et dans des cellules neurogliales).

Quant au NO, il est libéré par l'épithélium, les cellules endothéliales, les astrocytes, les lymphocytes, les macrophages, les voies respiratoires supérieures, les neurones, certaines terminaisons nerveuses et les cellules gliales.

Dans le corps, le NO peut être porteur de mort ou de vie. En surabondance, il peut tuer lors d'un accident cardiovasculaire, d'un choc septique, d'une infection bactérienne ou d'une cirrhose; il peut diminuer la contraction du myocarde, entraîner des dommages tissulaires ou déclencher la sclérose latérale amyotrophique; en carence, il peut entraîner la sténose pylorique du nourrisson ainsi que contribuer au vasospasme de l'hémorragie sous-arachnoïdienne, au vieillissement cérébral et à l'athérosclérose.

En quantité normale, il aide à l'entreposage et au rappel de l'information, fonctions clés de l'apprentissage et de la mémoire; il permet aux globules blancs de tuer des cellules et bactéries pathogènes ou tumorigènes; il sert de facilitateur aux neurotransmetteurs pour dilater les vaisseaux

sanguins; il empêche la formation de caillots de sang en entravant l'agrégation des plaquettes; il devint le policier de notre propre pression artérielle.

Et, chose très importante pour la survie de l'espèce, le NO permet de transformer l'excitation sexuelle de l'homme en érection pénienne. Stimulé par le cerveau, des nerfs pévliens se mettent à produire du NO. Ce dernier dilate les vaisseaux sanguins au endroit clés du pénis, le sang s'y précipite et l'érection s'ensuit. En cas de blocage de la synthèse du NO, les vaisseaux-clés ne peuvent réagir et le pénis reste au repos. Au lieu d'être impuissant à un trouble psychiatrique ou à un échec conjugal, l'andréon, qui affecte un homme sur dix, serait donc due à une déficience chimique que l'on pourrait traiter comme le diabète ou la psychose maniacodépressive.

Enfin, à faible dose contrôlée, il est reconnu comme agent thérapeutique et utilisé pour dilater les vaisseaux sanguins et améliorer l'oxygénation des organes corporels.

Étant donné ses pouvoirs occultes, des chercheurs ont étudié le NO tous azimuts pour se rendre compte qu'il jouerait aussi un rôle physiologique dans la vision, le comportement d'alimentation, la nociception (altération tissulaire) et l'olfaction, et qu'il occupe une place de plus en plus grande dans la chimie du cerveau.

Un gaz produit par les poumons

JOCELYNE DELAGE
collaboration spéciale

Nous avons toujours cru que le gaz qui se rendait à nos poumons venait de l'atmosphère. Nous avons toujours su que le corps n'avait presque pas de réserves en oxygène et que, en cas de défaillance respiratoire, il fallait intervenir rapidement et offrir de l'air enrichi en oxygène, ou bien procéder à une oxygénation et une épuration du CO_2 à l'extérieur du corps au moyen de ventilateurs d'appoint.

Mais voilà que nous apprenons que la plupart de nos cellules libèrent un gaz qui aide à respirer: le monoxyde d'azote (NO). C'est la grande surprise.

Le Dr Gilbert Blaise, anesthésiologiste au pavillon Notre-Dame du Centre hospitalier universitaire de Montréal, mentionne qu'à un niveau cardiovasculaire, le NO qui est libéré par les cellules endothéliales, présentes en plus grande quantité dans les artères que dans les veines, l'est sur la paroi intérieure d'où il émigre vers les cellules musculaires qu'il détend. Ce faisant, il les dilate et réduit la pression artérielle.

Il nous précise que « le monoxyde d'azote est même produit par les vaisseaux pulmonaires et qu'il maintient leur dilatation. Ainsi fabriqué par les voies aériennes supérieures, en particulier le nez, et les sinus paranasaux qui sont comme une usine à NO, ce gaz garde les petites voies aériennes dilatées. Chaque fois qu'on inspire, une partie du NO est inhalé et amené aux poumons pour y régler la distribution de la ventilation et de la perfusion pulmonaires. »

La ventilation intracorporelle dépend de trois systèmes. Les illustrations de la page précédente montrent le cheminement de l'air et du monoxyde d'azote vers les poumons. Entrant par la bouche ou sortant des narines nasales (système aérière), le NO est inspiré (système ventilatoire) vers les alvéoles, points de terminaison des voies aériennes intrapulmonaires, où se produit l'échange gazeux permettant au sang veineux de se transformer en sang artériel (système avéolaire). Puis le sang artériel apporte de l'oxygène aux cellules

et élimine le gaz carbonique que ces dernières ont produit.

Le monoxyde d'azote contribue donc à mieux capter l'oxygène pulmonaire pour améliorer l'oxygénation des organes. Il aide les cellules musculaires lisses des bronches et des vaisseaux sanguins à se relaxer, ce qui diminue l'hypertension pulmonaire. Il empêche les plaquettes et les globules blancs (leucocytes) de se regrouper (adhésion/activation), et diminue ainsi l'inflammation pulmonaire qui peut entraîner de l'œdème, la mort des cellules ainsi que la production de radicaux libres toxiques.

La thérapeutique

Au laboratoire d'anesthésie du pavillon Notre-Dame, on se sert du monoxyde d'azote dans la ventilation assistée pour soigner plusieurs maladies graves. Les vents thérapeutiques du NO en inhalation peuvent s'appliquer dès le tout jeune âge. Il sert à traiter l'insuffisance respiratoire, l'hypertension pulmonaire chez le nourrisson, mais aussi chez l'adulte après une chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle, car il y a risque de décompensation cardiaque et même de mort.

Le Dr Blaise précise qu'à ajouté au gaz fourni par ventilation mécanique, il contribue à améliorer l'état pulmonaire et à faciliter la guérison. On peut l'administrer par cathéter dans le nez (lunettes nasales) ou par cathéter dans la trachée. Le NO injecté est complètement absorbé par l'organisme.

Dans le but d'étudier le côté thérapeutique du monoxyde d'azote, le Dr Gilbert Blaise a mis sur pied, avec des collègues de Sherbrooke, Québec et Montréal, la Fondation de la recherche sur le monoxyde d'azote. Des études de pointe, rivales avec celles de l'université Harvard, y sont actuellement en cours afin de vérifier le rôle que peut jouer le NO pour améliorer la santé. Elles portent sur les maladies pulmonaires, l'athérosclérose, l'hypertension, le diabète, les maladies inflammatoires de l'intestin, la cirrhose, l'ostéoporose, les maladies infectieuses et les maladies nerveuses dégénératives.

Figure 1. Monoxyde d'azote : gaz toxique ou thérapeutique ? Cahier Santé du journal *La Presse*, Montréal, du 3 août 1997.

C'est sur cette séquence tripartite que s'articule notre travail de thèse. À l'aide de publications réalisées par notre groupe, la première partie traite de l'aspect technique du NO inhalé en débutant par une vision générale et critique de la littérature (article de revue publié dans *Critical Care Medicine* 1998; 26: 782-796). Par la suite les travaux expérimentaux portent (i) sur une comparaison des systèmes d'administration du NO inhalé (*Canadian Journal of Anaesthesia* 1995; 42: 922-927) et (ii) sur la mesure du NO et de ses dérivés par chimioluminescence aussi bien en phase gazeuse que dans les liquides biologiques (*Clinical Chemistry* 1997; 43: 657-662). Finalement, de simple collaborateur nous avons su développer une certaine expertise permettant toutes les discussions telles que celles proposées dans l'écriture de lettres à l'éditeur (*Anesthesiology* 1997; 87: 1 591-1 592; *British Journal of Anaesthesia* 1998; 80: 697).

La seconde partie concerne l'utilisation expérimentale animale et clinique humaine du NO inhalé. Après une revue de littérature exhaustive des applications cliniques, des indications et de la toxicologie potentielles du NO inhalé (*Canadian Journal of Anaesthesia* 1997; 44: 973-988), nous distinguons deux sections dans la présentation de nos travaux expérimentaux. La première porte sur l'effet du NO inhalé dans le traitement de deux modèles porcins d'hypertension pulmonaire induits respectivement par l'hypoxie (*European Journal of Anaesthesiology* 1996; 13: 521-529) et l'administration intraveineuse de phényléphrine (*British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 631-640). La seconde est axée sur l'évaluation de cette thérapie expérimentale dans le traitement du SDRA au cours d'une étude pilote, prospective, randomisée avec groupe contrôle (*The Lancet* 1997; 350: 111-112; *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 157: 1 483-1 488).

La synthèse des études animales permet de souligner les questions en suspens ou qui ouvrent de nouvelles perspectives de recherche. C'est sous ce principe et dans le cadre du programme de cotutelle de doctorat qu'est exposé le projet en cours au sein du Laboratoire de Pharmacologie et de Physiopathologie Cellulaires de l'Université Louis Pasteur - Strasbourg I qui permettra d'apporter d'autres éléments de réponse à ces questions. Les connaissances acquises ont permis de collaborer à la rédaction d'un éditorial sur l'approche thérapeutique dans le SDRA (*Canadian Journal of Anaesthesia* 1997; 44: 973-988) et plus enco-

re, l'expertise combinée des résultats expérimentaux obtenus avec la phényléphrine chez l'animal et de l'étude clinique sur le SDRA a facilité la discussion des travaux d'autres chercheurs (*Anesthesiology* 1998; sous presse).

En conclusion générale, nous traçons les grands acquis d'une décennie d'utilisation du NO inhalé en conditions expérimentales chez l'animal et l'Homme et surtout, nous cherchons à définir la place véritable de cette thérapeutique si prometteuse en 1988.⁽¹⁰⁾

« En un mot, la physiologie doit être constamment appliquée à la médecine pour comprendre et expliquer le mécanisme des maladies et l'action des agents médicamenteux »

Claude Bernard, Introduction à l'étude de la médecine expérimentale, 1866.

« *THE TRUTH IS OUT THERE* »

« LA VÉRITÉ EST AILLEURS »

THE X FILES, 1998.

Première partie

Technologie de l'administration et du monitoring du monoxyde d'azote inhalé

Chapitre 1

REVUE DE LITTÉRATURE

1.0 Aspects techniques de l'administration et du monitoring du monoxyde d'azote inhalé.

Ce premier article présente les diverses composantes nécessaires à une utilisation clinique ou expérimentale adéquate du NO inhalé en partant de la source de NO exogène, *i.e* les cylindres de NO gazeux dilués avec de l'azote (N_2) ou autre gaz inerte, pour ensuite passer aux différentes techniques d'administration du NO inhalé qui ont vu le jour au gré des astuces et trouvailles des Cliniciens ou de l'investissement de compagnies spécialisées ainsi que leurs spécifications en fonction du mode d'utilisation. Nous poursuivrons par une revue des systèmes de monitoring des oxydes d'azote (NO_x) disponibles sur le marché avant de terminer par une description exhaustive des trappeurs de NO_x .

Dans l'élaboration de ce travail, Monsieur Martin Francoeur et le Docteur Éric Troncy se sont répartis équitablement les tâches, le premier nommé étant responsable de la recherche d'information, de la conception pratique des systèmes et techniques proposés et de leur approbation, le second s'occupant de l'écriture du manuscrit, de sa mise en page, de la synthèse des travaux publiés, de la pertinence et de la justesse des propos avancés, le tout requérant bien sûr l'approbation du Directeur de recherche, le Docteur Gilbert Blaise. Les auteurs de l'article ont une expérience combinée de l'administration de NO inhalé pour près de 100 patients sur les quatre dernières années écoulées.

Inhaled nitric oxide: Technical aspects of administration and monitoring

Martin Francoeur, RRT; Eric Troncy, DVM, MSc; Gilbert Blaise, MD

Objectives: Clinical applications of inhaled nitric oxide (NO) therapy resulted in the development of delivery systems and monitoring devices applicable to routine clinical care. This article presents the various components necessary for an adequate clinical use of inhaled NO, and discusses the NO gas mixture cylinders, inhaled NO delivery techniques and specifications, monitoring devices, and ending with an exhaustive description of the scavengers of nitrogen oxides (NO_x).

Data Sources: Computerized search (CURRENT CONTENTS, MEDLINE) of published original research and review articles (~200), conference abstracts and compendiums up to May 1997 (~50), personal files, and contact with expert informants.

Study Selection: Technical, experimental, and clinical reports were selected from the recent English, French, German, and Spanish literature, if pertinent to the administration or monitoring of inhaled NO.

Data Extraction: The authors extracted all applicable data.

Data Synthesis: The production of NO gas mixture cylinders must be certified with respect to gas purity, stability, and concentration (limits between 100 and 1000 ppm), guaranteed calibration, and specific color. An ideal inhaled NO delivery device requires a synchronized delivery, a minimal production of nitrogen dioxide

(NO₂), and should be simple to use (verification, calibration, convenient flushing, cylinder change possible while in use and a simple alarm setting) with full information (high and low alarms and available precision monitoring of NO, NO₂, and O₂). Emergency and transport systems must be readily available. The choice of the monitoring device (chemiluminescence or electrochemistry) should be made based on the knowledge of their strength and weakness for a particular clinical application. Finally, scavengers of NO_x should be used with caution until specific filters are proven safe and effective.

Conclusions: The great expectancies generated by inhaled NO action have led researchers to design personal inhaled NO delivery systems, but only with mitigated results. At present, medical companies are finding a financial interest in designing a delivery system which will suit the needs of clinicians and this, along with official governmental approval, will only then permit the use of inhaled NO safely and on a larger scale. (Crit Care Med 1998; 26:782-796)

KEY WORDS: nitric oxide, administration, analysis, toxicity; nitrogen dioxide, standards, toxicity; ventilator, mechanical, standards; gas scavengers

Despite the growing use of inhaled nitric oxide (NO), a standard and certified technique for delivering inhaled NO does not yet exist, and measuring devices are not fully adapted for clinical applications. Except in France where inhaled NO has been recognized as part of the therapeutic arsenal (Temporary Authorization for Hospital Use)

From the Laboratory of Anesthesia, Department of Anesthesia, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Pavillon Notre-Dame, Montréal, PQ, Canada.

Supported, in part, by grants from the Medical Research Council of Canada. Dr. Troncy is supported by grants from Faculté des Études Supérieures of Université de Montréal, Rhône-Alpes region (France) Eurodoc program, and Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche in France.

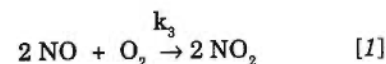
Address requests for reprints to: Gilbert Blaise, MD, Laboratory of Anesthesia, C.H.U.M.—Pavillon Notre-Dame, 1560 Sherbrooke Street East, Montréal, PQ, Canada, H2L 4M1.

Copyright © 1998 by Williams & Wilkins

(1), inhaled NO therapy remains unlicensed. The U.S. Food and Drug Administration (FDA) has stated that the inhalation of NO requires an Investigational New Drug application. However, with regards to the Neonatal Inhaled NO Study, it is expected that the FDA will soon give approval for inhaled NO use in neonates. In Canada, neither the NO gas mixture cylinder nor the delivery and monitoring devices are approved for any indication; on the other hand, no authorization is necessary for inhaled NO use. Several individuals and companies have registered various patent claims for therapeutic indications and delivery techniques for inhaled NO.

Because the concentration of NO in the cylinder is very high (at least 10⁴ times higher than in rat cerebellum tissue) (2); the decomposition of NO in the presence of oxygen (O₂) is commonly assumed to occur after the third-

order reaction rate constant (k₃), with the formation of nitrogen dioxide (NO₂) (3):



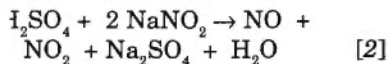
A characteristic orange-brown color and a sharp sweet and metallic smell can be noticed when gaseous NO leaks from a concentrated cylinder, which is representative of the formation of the highly toxic NO₂ (4). Byproducts toxicities, particularly those of NO₂, are believed to predominate over NO-specific toxicity during NO inhalation. The Occupational Safety and Health Administration (OSHA) has set the guidelines limit for NO₂ workplace exposure at 5 parts per million (ppm) (5). The main goal for a safe device used for inhaled NO therapy is to minimize the formation of NO₂ with careful, precise, and reliable delivery and monitoring

potential toxic agents. The scope of review does not include other areas of potential inhaled NO toxic such as the formation of methemoglobin and the interaction with other radicals with production of cyanide.

We will present the different components necessary for an adequate clinical use of inhaled NO, covering NO gas mixture cylinders, the delivery techniques and specifications, monitoring devices, and ending with an exhaustive review of the scavengers of NO and NO₂.

NO₂ GAS MIXTURE CYLINDERS

Medical research grade NO gas mixtures for therapeutic use have been manufactured only since ~1990. After FDA approval, gas companies will most certainly have to be licensed under the current Good Manufacturing Practice regulations for pharmaceutical grade gases, as is already the case in France and Germany. NO is produced from the reaction of liquid sulfuric acid (H₂SO₄) and liquid sodium nitrate (NaNO₃), and then purified of nitrogen (N₂), nitrous oxide (N₂O) and carbon dioxide (CO₂) (6):



The reaction results in a gas mixture consisting of 95% NO and 5% NO₂. To use pure NO would be difficult to mix with precision and safety, and mixtures of NO in an inert carrier gas are used. Until now, NO has been diluted with N₂, but other inert carrier gases such as argon and helium would be suitable. Compared with the use of helium as the balance gas in NO gas mixture cylinders intended for the delivery of NO and fresh oxygen to the lung and resulted in impaired oxygenation in children with congenital hypertension after cardiac surgery (7). The minimum purity of a gas mixture cylinder is 99.0% and the cylinder is further verified with a NO₂ chemiluminescent analyzer for accuracy of concentrations, using a certified blend from the U.S.A. National Institute of Standards and Technology. In the filling, some cylinders are produced through the Spectra-Seal™ (BOC Gases, Port Allen, LA) treatment procedure providing a contaminant-free in-

terior surface to prevent degradation of the stored NO (8). By varying the respective NO and N₂ proportions, it is possible to adjust the NO concentration to the requested concentration which is certified for a period varying between 1 and 3 yrs and written on the cylinder's analysis certificate (6, 9). It was observed by Stenqvist et al. (10) that the first few liters of gas in the cylinder are enriched with NO₂ (12 ppm), the cylinder (484 ppm NO) needed to be flushed (~20 L), and the gas needed to be discarded properly through a wall suction before use. This excessive NO₂ production could be due to O₂ present in the manometer, tubing, and connectors between the cylinder outlet and the site of measurement; O₂, therefore, reacts with high concentrations of NO. Furthermore, it is also known that NO can be metabolized into N₂, NO₂, N₂O and dinitrogen dioxide, owing to the inherent chemical reactivity of NO and the high pressure in the cylinder facilitating the reaction rate (6).

Cylinders are made of a light aluminum alloy and filled to 2000 psig (137 bars). Available sizes are 1000 and 4000 L, and smaller cylinders of 70 and 104 L are now available. A stainless steel two-stage manometer (Compressed Gas Association [CGA] 660 or CGA 626) and stainless steel or Teflon tubing and connectors are recommended for the sake of the corrosive nature of NO. Plastics and rubbers are expected to degrade in a short period of time after exposure to high NO concentrations (3).

Recommended cylinder concentrations are between 100 and 1000 ppm. One thousand ppm NO cylinders have been suggested as the maximum allowed concentration based on safety aspects (11, 12). In case of cylinder leakage or maladjustment of connections, the concentration of NO wasted into the atmosphere would not be higher than the concentration measured in cigarette smoke (13). In France, the highest NO cylinder concentration has been limited to 450 ppm by regulatory authorities (1); in the United States, the BOC group has asked for a 400 ppm cylinder FDA approval associated with their inhaled NO delivery device (14).

Concentration of NO₂ in the cylinder must be as low as possible. Reported concentrations of NO₂ vary

greatly in the literature. Cylinders of 220 and 993 ppm NO (Commonwealth Industrial Gases, Sydney, Australia) contained as much as 10 and 17 ppm NO₂, respectively (15). Other investigators found <8 and 22 ppm of NO₂ in the 800 and 2200 ppm cylinders (Scott Specialty Gases, Plumsteadville, PA), respectively (16).

INHALED NITRIC OXIDE DELIVERY TECHNIQUES

The ideal delivery technique must be reliable and require minimum manipulation. Nitrogen dioxide production must be maintained as low as possible, i.e., contact time between NO and O₂ must be as short as possible, owing to their chemical reactivity. Adding NO to the inspired gas at a distal site in the ventilator circuit is one strategy which minimizes the time available for oxidation. The NO concentration delivered in the range of 0.1 to ~100 ppm needs to be accurate, stable, independent of tidal volume, respiratory rate, peak inspiratory flow, flow waveform, pressure support, pressure control ventilation, continuous bypass flow or Flow-by™ (Nellcor Puritan-Bennett, Carlsbad, CA) FIO₂ or any other ventilator parameter. Also, the optimal NO concentration (i.e., the lowest effective concentration of inhaled NO on arterial oxygenation and/or pulmonary arterial pressure [PAP]) should be used. The system must permit on-line analysis of NO, NO₂, and O₂ concentrations distally to the delivery site, in order to have a homogeneous inspired gas mixture, with stringent controls and alarms. Emergency and transport systems must be readily available for the provision of inhaled NO to dependent patients during either failure of the delivery system or intra- and inter-hospital transfer since sudden interruption of inhaled NO can cause a significant decrease in arterial oxygen hemoglobin saturation (17) and an increase in PAP (18). Finally, all delivery systems of inhaled NO should have a scavenging unit for the exhaled gases to protect the personnel from being exposed to concentrations of NO and other nitrogen oxides (NO_x) that are greater than those allowed (5).

Since the first report of inhaled NO therapy by Pepke-Zaba et al. (19) which studied the administration of an NO/air mixture in a Douglas bag to

nonintubated patients, delivery systems have been developed in response to various technical and clinical conditions. Two main concerns for the distribution of NO to intubated patients have evolved: a) to maintain a constant NO concentration through delivery at the mechanical ventilator gas inlet; b) to minimize oxidation of NO through direct delivery in the inspiratory limb.

At the Mechanical Ventilator Gas Inlet

Standard air/O₂ blenders are still being used to mix a NO gas mixture cylinder with a N₂ cylinder (16, 20–25). The NO gas mixture cylinder is connected to the O₂ port of the blender and the N₂ cylinder to the air port (Fig. 1A). This mixture of NO/N₂ is either introduced at the air inlet of the mechanical ventilator (Fig. 1A) (20, 23–25) or at the O₂ port of a second blender (Fig. 1B) (16, 21, 22). The low-pressure inlet of the Servo™ (Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden) ventilators can also be used with a flowmeter alone (Fig. 1C) or in association with a blender mixing the

gases before the flowmeter (16). Such systems are likely to give stable NO concentrations during all modes of mechanical ventilation since gas mixing occurs at the mechanical ventilator gas inlet.

With the standard air/O₂ blender (961™, Siemens-Elema A.B.), it may be difficult to adjust a precise NO concentration (24). We have observed that inhaled NO injection does not start at 21% on the adjustable knob of this blender (24) and that fine adjustments are more difficult (16) for low F_{IO₂} and low NO concentration (24). To circumvent this difficulty, a cylinder with a lower NO concentration, a low flow blender, and/or a two-step dilution can be used (Fig. 1B). As the cost of the NO gas mixture cylinder is mostly related to preparation and distribution, using a cylinder with a lower NO concentration increases the cost of treatment and requires more frequent cylinder changing. Low flow blenders (16, 26) allow a more precise adjustment of the NO concentration. For the two-step dilution, the mixture of NO/N₂ from a first blender is further diluted by N₂ (21) or O₂ (16), through a second blender

before being introduced at the mechanical ventilator air inlet (Fig. 1B), leading to a more precise delivery. Algorithms are available to estimate blender settings and obtain the desired NO concentration (27).

Like Nishimura et al. (21), we observed a significant increase in NO₂ production when substituting the N₂ cylinder for an air cylinder (Fig. 1A) or for a mixture of air/O₂ (25). Therefore, these are not recommended. Adding O₂ to the second blender (Fig. 1B) is not expected to produce as much NO₂ because the concentration of NO has already been diluted by the first blender and is much lower in the second blender (16). It has been shown (22) that the air/O₂ blender with the two-step dilution (Fig. 1B) used for inhaled NO delivery may be variable, unpredictable, and potentially dangerous if not tested before use.

The introduction of NO gas mixture at the mechanical ventilator gas inlet has several other drawbacks. A proportion of the gas mixture is used to power the mechanical ventilator (1 to 3.6 L/min, 7200™, Nellcor Puritan-Bennett) and vented into the room environment (24). This represents not only extra cost but it may also contribute to an increase in the pollution level to which personnel are exposed. Hence, most air/O₂ blenders have a bleed flow venting into the room environment as much as 10 L/min. Furthermore, the blender technique requires that the N₂ cylinder be changed frequently, depending on the patient's minute ventilation, NO concentration, and F_{IO₂}. NO and NO₂ have oxidizing properties, which could theoretically affect metallic and nonmetallic parts of the mechanical ventilator and may induce premature breakdown. However, Wessel et al. (16) mentioned that they used this technique over a period of 20 mos without observing any corrosive effect.

The introduction of NO/N₂ gas mixture at the mechanical ventilator gas inlet prolongs the residence time between NO and O₂ (2 to 8.6 secs, 7200, Nellcor Puritan-Bennett) (24), increasing the amount of NO₂ produced. Completely washing inhaled NO out of the circuit may take as much as 1 min (24), possibly because of NO gas stagnation in the corrugated tubing (28). We have also shown that the NO₂ production reaches significant concentrations at high F_{IO₂} (0.9) and

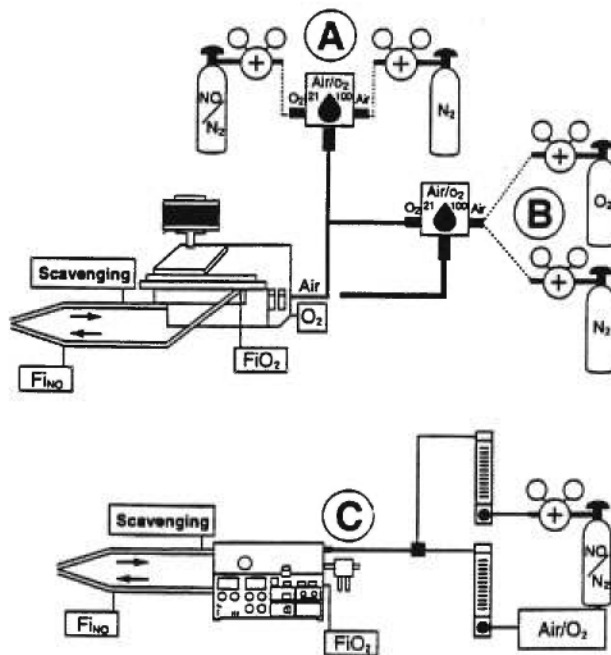


Figure 1. Inhaled nitric oxide (NO) delivery at the mechanical ventilator gas inlet. (A) A basic delivery system using an air/O₂ blender where the NO gas mixture is connected to the O₂ port and N₂ to the air port of the blender. The final mixture is introduced at the air inlet of the mechanical ventilator. (B) A two-step dilution system where the mixture from the first blender is introduced at the O₂ port of a second blender and another N₂ cylinder at the air port. The final mixture is introduced at the air inlet of the mechanical ventilator. (C) A delivery system using a blend of air/O₂ mixture with NO gas mixture and two flowmeters connected to the low pressure inlet of the 900 series Servo™ (Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden) mechanical ventilator.

>60 ppm (24). Different results have been obtained by others, where NO₂ was not detected at 80 ppm (20), or 50 ppm NO (21) and high FIO₂. Usually, there may be a limit to the highest FIO₂ that can be delivered, especially at high NO concentration. With 100 ppm NO cylinder and a NO concentration of 80 ppm, an FIO₂ of only 0.3 was attainable (20).

In the case of the 900 series Servo mechanical ventilators, the internal reservoir has a capacity of 0.9 L, which increases the residence time and the NO₂ production (16, 21). Through the pressure inlet of this mechanical ventilator, NO and a blend of air/O₂ can be mixed by two flowmeters (Fig. 15). Stenqvist et al. (10) used two mass flow regulators to control the flow of breathing gas and NO, and their system was modified to become the MIUS C™ delivery system (Dansjö Medical, Järfällä, Sweden). It is now made of three mass flow regulators for air, and NO (1000 ppm) which are controlled by a computer allowing a constant NO concentration despite any change in air/O₂ mixture flow rate (29). Delivery of inhaled NO through the pressure inlet (Fig. 1C) was found to produce transient concentrations of NO_x as high as 3 ppm, but decreased to 1 ppm after the bellows were emptied (10). Also, the patient's minute ventilation must match the NO blend flow to avoid any collapse or overflow of the internal bellows which, in the latter case, will vent NO into the room environment.

In the Inspiratory Limb

Continuous inhaled NO delivery is usually used with continuous-flow, time-cycled, pressure-limited ventilators, such as those used for neonates (Fig. 1) (30–32), and with high-frequency ventilation (33) independent of the patient's minute ventilation. Since there is a continuous flow of air/O₂ of 10–20 L/min, the contact time between NO and O₂ is fairly short (30) (~0.6 sec from the humidifier to the "Y" piece), which results in concentrations of NO₂ ranging from 0.6 to 2.4 ppm for 10 to 20 ppm NO at an FIO₂ of 0.9 (31). Predicted NO concentration can be estimated using the following formula (34, 35):

$$\frac{(\text{NO gas mixture cylinder concentration} \times \text{NO flow})}{(\text{Ventilator flow} + \text{NO flow})} \quad [3]$$

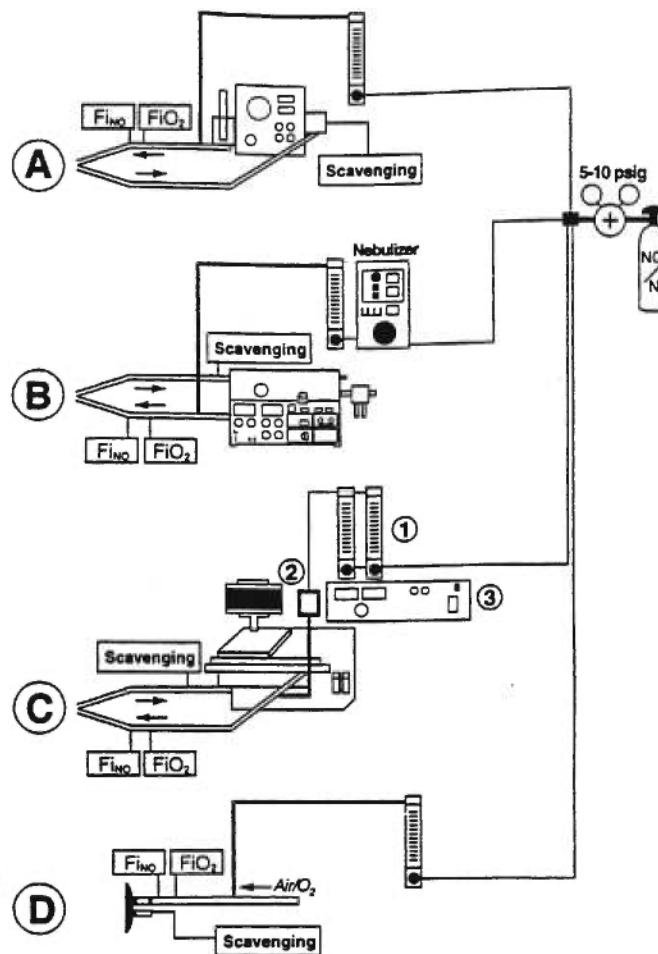


Figure 2. Inhaled nitric oxide (NO) delivery in the inspiratory limb. (A) A delivery system using continuous NO flow, mostly used for a continuous-flow, time-cycled, pressure-limited mechanical ventilator. (B) A delivery system using a standard nebulizer (945™, Siemens-Elementa A.B.) usually set to 15 L/min and then connected to a flowmeter which allows for injection during the inspiratory phase. (C) A delivery system consisting of a low pressure system starting from the NO gas mixture cylinder with a stainless steel two-stage manometer, set to 5 to 10 psig, connected to two flowmeters (1), and a solenoid valve (2) which is closed when not activated. An electronic circuit (3) detects the beginning and the end of each inspiration by processing the signal coming from the ventilator flow sensor. During the inspiratory phase, the electronic circuit opens the solenoid valve, and NO is injected into the inspiratory limb 75 cm upstream of the "Y" piece. (D) A delivery system used to give inhaled NO by a face mask with continuous NO flow.

However, the utility of theoretical formulas for the calculation of NO doses has recently been questioned (36). Appropriate mixing of NO with air/O₂ is an important factor (33) as it can lead to NO concentration delivery estimate errors (28, 34). If there is appropriate mixing, it is expected that the NO concentration is stable, since mechanical ventilator and inhaled NO flows do not change and patient triggering will not affect NO concentration values. Continuous inhaled NO delivery into a standard inspiratory circuit during phasic-flow mechanical ventilation resulted in marked NO concentration fluctuation that is not detected by a

slow-response chemiluminescence analyzer (37).

Using continuous NO flow with adult mechanical ventilators (15, 33) is expected to generate greater concentrations of NO₂. The contact time between NO and O₂ is increased due to the tidal flow and the longer transit time. NO concentration may be extremely variable due to the changes in minute ventilation (34). A continuous flow of NO into the inspiratory limb of the circuit results in a small bolus of NO accumulating during expiration. This bolus effect is a source of high NO concentration and low FIO₂ at the beginning of inspiration (35). Changes in

ventilatory settings induced gross underestimation of the NO concentration during continuous inhaled NO delivery (35). This observation precludes prediction of NO concentration using simple mathematical calculations. Young et al. (38) reported a production of 6 ppm NO₂ with 128 ppm NO (F_{IO₂} not specified), using a slow response time NO/NO_x analyzer (TECAN CLD 700AL™, Eco Physics A.G., Dürnten, Switzerland). Nathorst Westfelt et al. (29) observed from 110% to 230% more NO₂ produced with continuous inhaled NO delivery compared with intermittent inhaled NO delivery such as with the NOMIUS C system. Putensen et al. (23) observed no difference in NO₂ production with the blender system and continuous inhaled NO delivery to the proximal end of the endotracheal tube. Finally, other investigators (15, 39) have demonstrated a greater variability in the NO concentration within the circuit with continuous inhaled NO injection compared with intermittent injection cycled on inspiration.

The PulmoNOx IIB™ (Pulmonox Medical Corporation, Tofield, AB, Canada) is a continuous inhaled NO administration system delivering NO (mass flowmeter) according to the minute ventilation set by the user, and incorporates a NO, NO₂, and O₂ electrochemical analyzer. The DelNO2000™ (SensorMedics B.V., Biltoven, The Netherlands) uses an electronic flowmeter but does not include any monitoring. This inhaled NO delivery system has been demonstrated to maintain constant NO flows, independent of ventilator circuit pressures, up to 2 L/min while providing a resolution of 1 mL/min.

Intermittent inhaled NO delivery, cycled on inspiration, is an alternative to continuous delivery. The simplest and first model used was the 945™ (Siemens-Elema A.B.) nebulizer mounted with a flowmeter (Fig. 2B) (40, 41). Here, NO is injected during the whole inspiratory phase and the flow is adjusted with a NO monitoring device to the desired NO concentration. NO₂ production was found to remain <0.5 ppm for 10 to 20 ppm NO (F_{IO₂} not specified) (41). Using this technique, the NO gas mixture was added anywhere on the inspiratory limb and even at the proximal end of the endotracheal tube. In this case, calculating

or even measuring NO concentration is difficult (27).

We have built a flexible inhaled NO delivery system (Fig. 2C) (24). The system processes the digital flow signal from the mechanical ventilator (7200, Nellcor Puritan-Bennett) and opens an "on/off" solenoid valve during the inspiratory phase. This system can be used with any mechanical ventilator that has a digital flow signal output. With this injection system, almost all of the NO injected during one breath is delivered to the patient. Using a fast-responding NO analyzer (250 msec for 90% fullscale; 270B NOA™, Sievers Instruments, Boulder, CO), we were able to measure the NO concentration breath by breath and show that it decreased to close to 0 ppm (<0.1 ppm) in the inspiratory limb during the expiratory phase, considerably reducing the risks of NO₂ production (24). We have found that compared with the introduction of the NO gas mixture at the air inlet, the cycled gas mixture injection produced less NO₂ at high F_{IO₂} (0.9). NO₂ decreased from 8.9 ± 0.3 to 4.4 ± 0.08 ppm with 90 ppm NO, and from 4.5 ± 0.08 to 2.1 ± 0.1 ppm with 60 ppm NO, respectively. At an F_{IO₂} of 0.21, no difference in the amount of NO₂ produced was found between the two delivery systems (24). However, such systems may not deliver a constant NO concentration when the inspiration is triggered by the patient. Because the NO flow is fixed, it does not adapt to the variations in the patient's inspiratory flow provided by the mechanical ventilator.

The Opti-NO™ box (L'Air Liquide S.A., Les Loges-en-Josas, France) is an inhaled NO delivery system without monitoring and back-up system fixed directly to the manometer of the NO cylinder, and the NO flow injected is calculated from the patient's minute ventilation, cylinder concentration, high or low NO flow option, and pressure adjusted on the manometer (M. H. Renaudin, personal communication, 1996). This system has the advantage of being compatible with any model of ventilator from neonates to adults, but the system is limited when high and low NO concentrations are required.

The Servo Ventilator 300™ (Siemens-Elema A.B.) with NO option (42-45) is a fully integrated inhaled NO precision delivery system for all patient

groups: adult, pediatric, and neonate. It possesses an extra entry port for NO with a gas module (Servotek A.B., Arlöv, Sweden) built into the unit and an NO and NO₂ electrochemical monitoring with alarms. This system is relatively simple to use and includes convenient flushing (depressurizing tool), cylinder and alarm setting change when in use, and it offers a guaranteed calibration with factory calibration of the unit to suit local NO gas mixture cylinder concentrations. However, the NO dosing range is limited according to the maximum peak inspiratory flow. Another inhaled NO delivery system relies on the electrochemical technique to measure NO and NO₂ (NOdomo™, NO Dosing and Monitoring unit, Dräger A.G., Lübeck, Germany). This system is equipped with alarms. NO delivery is proportionally made in the inspiratory limb based on the percentage of inspiratory flow with NO concentration ranging from 1 to 99 ppm (utilizing a cylinder of 1000 ppm) (46). It has been reported that NOdomo (11) and Servo Ventilator 300 with NO option (43, 45) may show minor fluctuations of NO concentration (~10%). They have no associated back-up system, and their respective use is restricted to Evita™ series and Babylog™ (Dräger A.G.), and Servo Ventilator 300 mechanical ventilators.

A completely integrated system (Pulmonox™, Messer-Griesheim, Vienna, Austria) is currently under evaluation. NO and NO₂ concentrations in the inspiratory gas are measured by chemiluminescence and the patient's inspiratory flow data are analyzed by a computer that controls the opening of an electromagnetic valve (feedback loop), and the amount of NO added (33, 47). Optional back-up system and mobile set are available with the new evolution of Pulmonox, called NAMU™ (Messer-Griesheim/Nellcor Puritan-Bennett, Kirkland, PQ, Canada) and equipped with NO/NO₂ electrochemical sensors.

The I-NOvent™ (Ohmeda, Liberty Corner, NJ) delivers a constant NO concentration independent of ventilator or patient flow waveform and rate. This delivery device is associated with a continuous electrochemical monitoring, with alarms, of NO, NO₂, and O₂. This integrated unit can be used with most models of mechanical ventilators.

so offers a manual NO delivery a resuscitator handbag in case of m or ventilator failure, and a bat-back-up in case of power failure (Halley, personal communication,).

The INJECTOR™ (Institut du N.O., xéal, PQ, Canada) is based on the principle than the Pulmonox and vent devices, with back-up system without monitoring, and is currently under development (J. Déry, L. dou, personal communication,).

Proportional intermittent delivery inhaled NO into the inspiratory limb several advantages over continuous delivery and administration at the manual ventilator gas inlet: a) it decreases the residence time and oxidation to a minimum; b) it avoids the scavenging effect and adapts to changes in the ventilation; c) it reduces the consumption of the NO gas mixture; d) it avoids the necessity for a cylinder; e) it requires minimum manipulation; and f) it avoids contact between NO and the internal mechanical ventilator parts, eliminating possible corrosive effects and reducing the risk of ventilator malfunction and infection.

INHALED NITRIC OXIDE DELIVERY INDICATIONS

With an Anesthesia Machine. To our knowledge, there is no system for inhaled NO delivery with an anesthesia machine. The main problem is that to scavenge expired air, there must be an active filter for NO₂. The NO added to the inspiratory limb must take into consideration the NO still present in the injection of supplemental oxygen in order to maintain a stable NO concentration and a low NO₂ concentration. There are no reports on the use of inhaled NO passing through scavengers and other components of the anesthesia machine. Delivery of inhaled NO should take place in the inspiratory limb or just before the soda canister. It is also recommended to monitor NO and NO₂ concentrations in the inspiratory limb of the circuit to use higher fresh gas flow rates to minimize the effect of NO absorption by the soda lime (48). After the contamination of a N₂O cylinder by NO_x in September 1966 (49),

the need to address multiple issues related to NO_x led to the discovery that soda lime was useful as a NO_x scavenger in an anesthetic circuit. Kain (50) tested soda lime absorbers (with sodium manganate as color indicator) and observed that at concentrations of 1% to 2% NO_x, the "scrubbing" ability was exhausted with a change from the usual green to the tan color in 3 mins.

With an Ambulatory System. It is well known that patient may become extremely unstable after sudden withdrawal of inhaled NO. Therefore, it is mandatory to have an emergency and transport system able to provide inhaled NO, in case of either delivery system failure or during intra- and interhospital transfers. The simplest technique is the administration of a continuous flow of inhaled NO using a 1000 L (or 70 and 104 L) NO cylinder with a flowmeter attached to a manometer (51). However, an intermittent delivery of inhaled NO would be a better and more useful transport system.

A recently developed system (Noresc 1503™, DanSjø Medical Corporation) (52, 53) is composed of two flow restrictors, for O₂ and NO (1000 ppm) and allows delivery of 10 or 20 ppm NO with a self inflating resuscitator hand-bag. Also, the AeroNOx Transport System™ (Pulmonox Medical Corporation) is a portable system which uses a continuous inhaled NO flow provided by small cylinders (104 L) and also measures the NO and NO₂ concentrations. Because of their autonomy, these systems could be used along with different primary delivery devices as back-up systems, in addition to their use as transport systems.

With Spontaneous Nonintubated Breathing. Historically, nonintubated patients were the first to receive inhaled NO therapy. In 1988, Higenbottam et al. (54) compared the vasodilatory effects of inhaled NO to intravenous prostacycline in patients spontaneously breathing a mixture of 40 ppm NO in air contained in a Douglas bag. Inhaled NO was again given through a two-way valve and a Douglas bag (120 L) containing 40 ppm NO in air (19). In these two studies, NO₂ production was not measured. Austin (4) reported that 25% oxidation of 100 ppm NO is achieved in approximately 14 mins (FIO₂ = 0.21, at 20°C).

Reaction rate constant values (k₃ expressed as 10⁻³⁸ cm⁶/molecule² sec) for the conversion of NO into NO₂ (55) of 2 to 27.8 have been reported (21, 27, 30, 55-58). These differences are due to the variation in experimental method, static and dynamic conditions, temperature, and humidity. The NO oxidation kinetics were little affected by humidification (57, 58) and temperature (58); on the other hand, increasing FIO₂ from 0.19 to 0.8 may double the velocity of NO degradation (58). Significant NO₂ concentrations would therefore be expected in the situations where NO and air, or O₂, are contained in a large reservoir such as a Douglas bag.

Specific indications for inhaled NO to nonintubated patients are for diagnostic purposes such as the determination of the diffusion capacity at the alveolo-capillary membrane (59) or to test the reversibility of pulmonary hypertension before heart or heart/lung transplantation (60). A safe delivery system for nonintubated patients would be well appreciated to avoid endotracheal intubation and mechanical ventilation.

Continuous inhaled NO delivery is often used directly from the NO cylinder in-line with a low flow precision flowmeter, with a tight face mask (Fig. 2D) and very low concentrations of NO₂ are produced. This technique was used in a patient with end-stage pulmonary hypertension who was dependent on inhaled NO (61). It was first given through a tight face mask but because of long-term inconvenience it was substituted to a transtracheal Scoop™ (Transtracheal System, Denver, CO) catheter for 68 days. O₂ was given through nasal prongs, and the estimated delivered NO concentration was derived from the patient's minute ventilation (61). However, there are concerns about the potential toxicity of this NO concentration on the mucosal epithelium (62).

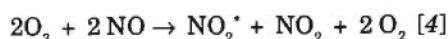
Wessel et al. (16) used the blender system with flow rates between two and three times the patient's minute ventilation delivered through a tight face mask. Intermittent inhaled NO delivery has been used for brief exposure to a patient with end-stage pulmonary fibrosis (63) using two blenders and a face mask with a demand valve. This system allows a blend of

NO and N₂/O₂ to be inspired on the patient's demand. The authors mentioned that there was no NO₂ production (<0.1 ppm) even if NO and O₂ could have reacted in the high pressure tubing from the blender to the face mask (63). Windberg et al. (64) constructed a Plexiglas hood, placed over the head of an infant, into which inspired gas containing NO could be added. Intermittent delivery systems could be used to give inhaled NO via a face mask by processing the inspiratory flow of the patient, minimizing the residence time, and reducing the NO cylinder consumption, as opposed to continuous inhaled NO delivery. The Pulmonox delivery system was used to test the efficacy of inhaled NO in patients with chronic obstructive pulmonary disease who were breathing through a face mask (65). Pulsed delivery of inhaled NO to ambulatory patients with primary pulmonary hypertension via nasal prongs was achieved efficiently with reduction of PAP. Therefore, an ambulatory system for spontaneously breathing patients may have a role in the long-term treatment of such patients (66). One patient was discharged home on a regimen of inhaled NO delivered via this system and was reported to be doing well after 36 wks of continuous NO inhalation.

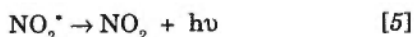
INHALED NO AND NO₂ MONITORING

The NO and NO₂ monitoring device should be precise, easy to handle, quiet, affordable, require a low sampling volume, and be capable of measuring a wide range of concentrations (i.e., 0.1 to 100 ppm). The response time to monitor the NO concentration from breath to breath should be minimal and not influenced by humidity, F_{IO₂}, gas flow or ventilation pressure. Calibration should be easy to perform. Alarms for low and high NO concentration and high NO₂ concentration should be available with all monitoring devices, and an oximeter should be incorporated to evaluate the actual F_{IO₂}.

Chemiluminescence Device. Chemiluminescent measurement of NO and NO_x was first used to measure ambient levels in urban areas and is based on the reaction of NO with ozone (O₃) producing NO₂, according to the reaction (67):

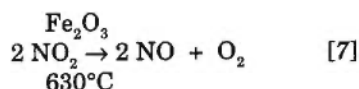
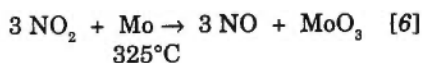


Ten to twenty percent of the NO₂ is produced in an excited state, and a fraction of this NO₂* returns to the resting state by emitting a photon between 600 and 3000 nanometers wavelength range:



where h is Planck's constant, ν is wavelength.

This luminescent signal is amplified and measured in a cooled photomultiplier tube by converting light emission into an electrical signal (68). To measure NO₂ and other nitrogen oxides, these NO_x first need to be reduced to NO by high temperature reaction with molybdenum (Mo), chromium trioxide, or other catalytic chemical converter (Eq. 6), or a high grade stainless steel thermal catalytic converter (Eq. 7), according to the following reactions:



Although the converter requires periodic replacement, chemical reduction has the advantage of being more stable and less subject to interference from other gas species (27). To ensure that production of NO₂* and consequently, the amount of luminescence are dependent only on the concentration of NO, O₃ is bled into the reaction chamber at a high constant rate to achieve a concentration that exceed this of NO by several order of magnitude. O₃ generated must also be scavenged, either by heating at ~400°C (converting O₃ to O₂), or through an activated charcoal filter or a wall suction. A second filter removes NO and other NO_x. Some apparatus have only one reaction chamber and can therefore measure only one gas at a time, while others have two reaction chambers and can measure simultaneously NO and NO_x, NO₂ being obtained from the subtraction of NO to NO_x.

The chemiluminescence technique has been said to be the gold standard to measure NO because it has good linearity, high sensitivity (ppb, even ppt concentrations with the most sophisticated industrial devices) and specificity (little cross-reactivity with

Table 1. Comparison of nitrogen oxides measurement by chemiluminescent and electrochemical monitors

	Chemiluminescence	Electrochemistry
Accuracy	NO: 1%; NO ₂ : -15 to -167%	NO: 2.4%; NO ₂ : 2%
Sensitivity	NO, NO ₂ : 1 ppb	NO, NO ₂ : 0.5 ppm
Measurement range	NO, NO ₂ : 10 ⁻³ - 100 ppm	NO: 3 - 100 ppm; NO ₂ : 0.5-50 ppm
Specificity	High	Low
Interference possible with ^a	Humidity, pressure, O ₂ , CO ₂ quenching and viscosity effects	Humidity, pressure, flow, H ₂ , HCl, H ₂ S, SO ₂ , CH ₄ S, CH ₄ , C ₂ H ₂ , C ₂ H ₆ , CH ₂ OH, C ₆ H ₆ , PH ₃ , NH ₃ , NO ₂ , CO, CO ₂
Response time	0.25-60 secs	10-120 secs
Sampling volume ^a	0.1-1 L/min (sidestream)	0 (mainstream) - 0.25 L/min (sidestream)
Fall time	<2 mins	30 secs-2 hrs
Ease of setup	Long heating and calibration time (20-30 mins)	Few min
Maintenance ^a	Chemical converters, capillaries and regulators, O ₃ generator replacement	Frequent recalibration, fuel cell replacement (<1 yr)
Ease of use	Large, noisy	Small, silent
O ₃ production	Yes	No
Cost	\$10,000-30,000	\$2,500-6,000

NO, nitric oxide; NO₂, nitrogen dioxide; ppb, parts per billion; ppm, parts per million; O₂, oxygen; CO₂, carbon dioxide; H₂, hydrogen; HCl, hydrogen chloride; H₂S, hydrogen sulphide; SO₂, sulfur dioxide; CH₄S, methyl mercaptan; CH₄, methane; C₂H₂, acetylene; C₂H₆, ethane; CH₂OH, ethanol; C₆H₆, benzene; PH₃, phosphine; NH₃, ammonia; CO, carbon monoxide; O₃, ozone.

^aSee text for more details.

er gases) (Table 1). Most chemiluminescence monitors also have a wide dynamic range with five orders of magnitude measuring capability. Response time is ~2 to 60 secs, but more recent monitors are faster. However, all analyzers are sidestream (often requiring large gas sample volume), expensive, cumbersome, noisy and need prolonged setting and calibration time (Table 1). In addition, they may exhibit signal fluctuation caused by interferences (quenching and viscosity effects) mainly from water vapor, mechanical ventilation pressure, O₂ and CO₂ (69). Of the total percentage of NO₂, only a fraction emits energy as a photon capable of reaction with the photomultiplier. The remainder loses energy through collisional deactivation (quenching) by reacting with "foreign molecules." The magnitude of quenching is dependent on the pressure, nature, and concentration of the "foreign molecules" in the analyzed sample. Quenching takes place in all analyzers but is most noticeable with stainless steel converters where the NO₂ quenching exceeds NO quenching. This produces unreliable NO₂ concentration data in clinical exposure situations (low [70] or negative [71] NO₂ concentrations). Moreover, Ches et al. (72) was concerned that quenching is not the sole explanation for the NO₂ underreading by chemiluminescence analyzers. High pressure in the reaction chamber or increased temperature of the stainless steel converters was questioned. Samples of sidestream analyzers at the "Y" piece will include inspired and expired gases whose composition varies owing to the uptake of NO in the lung and elimination of water and CO₂ from the lung. These contaminants (namely, water and CO₂) facilitate the quenching (45). It would therefore be preferable to avoid this sampling site and favor measurement in the inspiratory limb 10 cm upstream of the "Y" piece and away from injection site, such as shown in Figures 1 and 2. Tracheal NO and O₂ concentrations are routinely measured by using an endotracheal tube that incorporates two side ports (73). This method averages the inhaled and exhaled NO concentrations, and does not reflect the actual NO concentration, especially when monitoring with long response time analyzers. Lawrence et al. (74), using a faster responding analyzer (1.5 secs for the NO_x

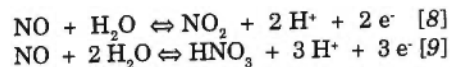
4000™ [Sérès, Aix-en-Provence, France]), recently showed that the actual inspiratory NO concentration is equal to double the mean endotracheal NO concentration. Another important feature of the chemiluminescence analyzer is the accuracy and stability of the sample gas flow achieved with capillaries and regulators. Because the sample gas is made of a mixture of different molecules, the calibration gas (NO in N₂) and the sample gas viscosities may differ and cause a change in the sample flow rate resulting in measurement errors.

Calibration should therefore take into consideration the FIO₂ which the patient is receiving. At high FIO₂, NO values may be underestimated by as much as 7% to 15%, and NO_x values may be further underestimated (69). Relative humidity of 100% results in the underestimation of NO concentrations by 10% to 15%, but most chemiluminescence apparatuses now have an in-line drier (75). Increasing relative humidity from 0% to 90% did not affect the measurements, and NO₂ formation (57). Miller (71) observed negative NO₂ values with a FIO₂ = 0.3, as opposed to accurate NO₂ measurements in N₂. The effect of FIO₂ on NO measurement was reconsidered by Goldman and Macrae (70), finding that measured NO₂ values were not negative with an increasing FIO₂ (0.2 to 0.9), but that there were discrepancies between two different chemiluminescent and one electrochemical analyzers. Four analyzers (two chemiluminescence, two electrochemical), examined at three FIO₂ (0.08, 0.5, 0.82), performed reasonably well with respect to NO measurement, but both chemiluminescence analyzers and one electrochemical device consistently underestimated the NO₂ concentrations (72).

Chemiluminescence analyzers, designed for environmental monitoring, were not fully adapted to clinical conditions (high FIO₂, sampling rate, pressure, etc). The new generation of analyzers must implement these considerations.

Electrochemical Device. The electrochemical fuel cell technique uses a diffusion barrier and three electrodes for the reaction of NO, or NO₂, with a highly conductive acid or alkali electrolyte solution and O₂ from sampled air. The gas sample is exposed to the diffusion barrier that limits the rate of

diffusion to the sensor. The design of the diffusion barrier determines the sensitivity of the sensor to temperature and ambient pressure variation. The sensing electrode is in contact with the diffusion barrier while the two other electrodes (counter and reference) are located deeper within the cell. Depending on the monitor, two kinds of oxidation reactions (Eqs. 8 and 9) occur at the sensing electrode (anode) (27):



At the counter electrode (cathode), the reduction of O₂ consumes hydrogen ions (H⁺) generated at the anode. The principles of the NO₂ sensor electrode are the same as those of the NO; however, the electrochemistry differs. These reactions create an electrical current flow proportional to the NO or NO₂ concentrations.

Electrochemical sensors can be mainstream (placed directly in the inspiratory limb) or sidestream. Used for environmental purposes, these sensors would normally last 2 to 3 yrs but for the clinical use, they are expected to last from 6 mos to 1 yr. Since water is implied in the reaction, condensing water and dry gas on the sensor will damage the cell. Therefore, it appears difficult to have continuous monitoring with mainstream sensors, as opposed to sidestream which could be used with a water trap. The calibration needs to be performed at least on a monthly basis, but may require to be performed more frequently (Table 1).

As opposed to chemiluminescence, electrochemical analyzers are most often portable, affordable, silent, easy to use, require less or no sample volume, and are less susceptible to underread NO₂ levels. Electrochemical analyzers have been proposed as an alternative (76) and compared to chemiluminescence. Temperature, pressure, humidity, air flow (77), O₂ (11), and other nonclinical gases with a lower oxidation potential than the sensor (i.e., sulfur dioxide, hydrogen sulfide, ethanol, phosphine) (78) may affect the NO and NO₂ measurements to varying degrees, resulting in more or less accurate readings especially <1 ppm (Table 1). Nathorst Westfelt et al. (29) observed an error of 40% at 0.3 ppm for the NO cell, compared with an error of 4% at 37.7 ppm. The NO₂ cell behaved the

same way with a 42% error at 0.2 ppm, but only 1% at 3.1 ppm. Mercier et al. (79) observed an overestimation of 2.4 ± 3.8 ppm in the range 0 to 100 ppm NO, and underestimation of 0.2 ± 0.55 ppm NO₂ (0 to 10 ppm) for the electrochemical analyzer compared with

chemiluminescence. Miller (71) observed an excellent correlation between electrochemical and chemiluminescent measurements of NO, and O₂ did not affect electrochemical NO₂ measurements, but did so for the chemiluminescent method.

Fajardo et al. (80) concluded that the marked effect of gas pressure on the NO reading precision by electrochemical sensors makes this device less suitable for NO monitoring in a patient ventilator circuit. This problem can be easily resolved using a pump

Table 2. Nitric oxide and nitrogen dioxide absorption properties of different products

Product	Concentrations before the Absorber NO (ppm)/NO ₂ (ppm)	Percentage of Absorption NO / NO ₂	Duration of Exposition	F _{IO₂}	Notes
Sofnol B.P. [™] (GB)(50)	1-2%/1-2%	- / -	3 mins	-	Historical study
Q-Sorb [™] (WV) (10)	40/0.8	-/87.5%	-	0.5	Infant ventilatory settings
Q-Sorb [™] (WV) (10)	20/0.5	15%/100%	-	1	Infant ventilatory settings
Q-Sorb [™] (WV) (10)	40/0.5	-/100%	-	0.5	Adult ventilatory settings
Q-Sorb [™] (WV) (10)	-/35	-/98.6%	-	-	
Sofnolime [™] (GB) (83)	40/<1	~80%/~80%	20 mins	0.78	Efficiency decreased with humidified gas
Sofnolime [™] (PW) (83)	40/<1	~4%/~3%	20 mins	0.78	
Sofnolime [™] (WV) (83)	40/<1	~1%/~0%	20 mins	0.78	
Soda Sorb [™] (WV) (84)	40/1	12%/40%	-	0.5	
Soda lime (48)	80/-	18%/~100%	-	0.85	
Sofnolime [™] (GB) (85)	46.6 ^a /3.4 ^a , 3 ^b	94.8% ^a , 100% ^b /88.2% ^a , 100% ^b	30 mins	0.7	Two different monitors were used:
Sofnolime [™] (PW) (85)	41.6 ^a , 41.1 ^b /3.1 ^a , 3 ^b	12.7% ^a , 8.3% ^b /83.9% ^a , 100% ^b	30 mins	0.7	^a Belfont and ^b Micromedical
Intersorb [™] (WV) (85)	39.9 ^a , 42.7 ^b /3.1 ^a , 3 ^b	13.3% ^a , 8.2% ^b /80.6% ^a , 100% ^b	30 mins	0.7	
Soda Sorb [™] (WV) (86, 87)	35.4/4.1	11.9%/100%	20 mins	<0.02	N ₂ was used as gas balance
Soda Sorb [™] (WV) (86, 87)	10.3/30.6	97.1%/100%	20 mins	<0.02	N ₂ was used as gas balance
Wako Lime-A [™] (WV) (87)	35/6.1	20.6%/100%	20 mins	<0.02	N ₂ was used as gas balance
Wako Lime-A [™] (WV) (87)	10.1/30	90.1%/100%	20 mins	<0.02	N ₂ was used as gas balance
Charcoal filter 633 [™] (88)	80/9.9	>99%/>99%	-	-	
Soda lime (GB) (89)	60/2.8	>95%/100%	-	0.8	
Soda lime (PW) (89)	60/2.8	13.3% ^c , 25% ^d /~60%	-	0.8	NO absorption was dependent on the NO ₂ presence: NO ₂ = 1.6 ^c and 4.6 ^d ppm
Soda lime (WV) (89)	60/2.8	13.3% ^c , 25% ^d /~60%	-	0.8	
Q-Sorb [™] (WV) (29)	100/4.7	7%/61.7%	72 hrs	0.9	Color of the absorber did not change
Charcoal (29)	100/4.7	41%/77%	72 hrs	0.9	
Charcoal + Permasorb [™] (90)	120/-	~100%/~100%	12 hrs	0.86	
Ca-A zeolite (91)	70/5	>98%/>98%	24 hrs	-	
Sofnolime [™] (GB) (91)	70/5	>90%/>90%	1 hr	-	
Sofnolime [™] (GB) (91)	70/5	~10%/~50%	24 hrs	-	Efficiency decreased after 1 hr
ABEK HgCONO-P3 [™] (92)	55-70/9-12	~99%/>95%	170 hrs	1	
Charcoal (92)	86.1/17.6	0%/0%	-	1	
Draeger-sorb [™] (92)	86.1/17.6	0%/17%	10 mins ^e /16 mins ^f	1	^e NO value; ^f NO ₂ value
noXon [™] (93)	50/-	-/100%	-	-	NO ₂ is transformed in NO
noXon [™] (93)	90/-	-/75%	-	-	NO ₂ is transformed in NO
noXon [™] (93)	18/0.2	0%/100%	1, 10 mins, 1, 2, 4, 10 hrs	0.55	NO ₂ is transformed in NO

NO, nitric oxide; ppm, parts per million; NO₂, nitrogen dioxide; F_{IO₂}, fraction of inspired oxygen; change of color of the indicator agent: GB, green to brown (sodium manganate, potassium permanganate); WV, white to violet (ethyl violet); PW, pink to white (cleyton or kenazol yellow); N₂, nitrogen.

ing ventilator pressure. Moreover, electrochemical devices require a period of stabilization (78). Finally, the fact that electrochemical analyzers are affected by high concentrations of volatile anesthetic agents (4% isoflurane affected measurement of 10 ppm NO concentration, and 20 ppm concentration measurement was only affected by 2% isoflurane) (81), that NO (>20 ppm) may interfere with monitoring of volatile agents (82) is of considerable importance.

SCAVENGERS OF NITROGEN OXIDES AND THE ROOM ENVIRONMENT

Scavengers of Nitrogen Oxides. Soda lime absorbers are composed mainly of calcium hydroxide, potassium hydroxide, water, and an indicator. The color indicator agent is potassium permanganate (changing from green to brown after use), cleyton or kenazol yellow (white to white), and ethyl violet (white to violet). Stenqvist et al. (10) used white to violet soda lime in their original NO delivery system which decreased the level of NO₂ produced in the breathing circuit by ~85%, decreased to 73.3% after 16 hrs, with little extraction (Table 2). Later, they determined absorption to be 7% for NO, 60% to 70% for NO₂ with white to violet soda lime (29). Pickett et al. (83) found that white to violet and pink to white soda lime absorbers were unable to absorb NO or NO₂. However, technical modifications (85) showed little extraction for NO and high extraction for NO₂. These results were in agreement with other data (84, 86, 89) which permit the following conclusion. NO₂ is mainly absorbed by chemical neutralization with white to violet and pink to white soda limes, NO is absorbed with equimolecular amounts of NO₂ only where they coexist. However, potassium permanganate (green to brown soda lime), a strong oxidizing agent, probably accounts for rapid and almost complete removal of both NO and NO₂ (83, 86, 87). Moreover, the contribution of potassium permanganate to NO uptake was supported by the observation of Poulton et al. (91) that the rapid reduction in NO concentration (after one hr) coincided with green to brown color change of the soda lime.

Use of soda lime for selective NO₂ scavenging appears not to be an ideal solution as a considerable amount of NO may also be absorbed, and some soda lime varieties appear not to absorb NO₂ or absorb it because of reactions with the indicator agent rather than the soda lime itself. Vaahs et al. (93) showed that the noXon™ (A.G. Hoechst, Frankfurt, Germany) polymeric filter material completely and selectively removes all NO₂ from inspiratory gas stream by converting the undesired NO₂ into NO. Adding this filter to the inspiratory limb of patients breathing 18 ppm NO decreased the NO₂ produced from 0.2 to 0 ppm. It must be considered that a filter added to the inspiratory limb may increase the effort necessary to trigger the mechanical ventilator and the work of breathing (27).

Room Environment. Because of the NO and NO₂ absorbent properties of green to brown soda lime, it has been proposed that it may be used as a scavenging system for the exhaled gases from the mechanical ventilator (89). It has also been suggested that activated charcoal is an excellent NO and NO₂ scavenger (88) and has been used on certain chemiluminescence analyzer gas exhaust. However, when white to violet soda lime was compared with charcoal, both absorbers showed the same level of NO₂ extraction (around 70%), and NO extraction was higher with charcoal (41% vs. 7%), although incomplete (29). Recently, a portable NO scavenging system was designed and evaluated with a neonatal continuous flow ventilator (90). It is composed of 50% activated charcoal and 50% potassium permanganate and completely removed 120 ppm NO for over 12 hrs (90). A calcium aluminosilicate zeolite filter (molecular sieve 5A™, BDH Chemicals, Poole, UK) was shown to be a highly effective and stable scavenger of NO and NO₂ (extraction ratios in excess of 98%) (91). Also, the ABEK HgCONO-P3™ (Dräger Industrial, Blyth, UK) filter absorbed almost all NO and NO₂ (92). The exhaust system Servo Evac 180™ (Siemens-Elcoma A.B.) has also been used as a scavenger for exhaled gases from the ventilator (15). We used a home-made exhaled gases scavenging system composed of a 2-L bag and corrugated tubing (open system) connected to a wall suction, which was used experimentally (24) and clinically

Practical application of inhaled nitric oxide requires a reliable and safe delivery system. To date, most of the technical developmental investigations arose from research projects demonstrating the reliability of several delivery systems. It is now time for private industry and governmental agencies to take the necessary steps to ensure establishment of the proper clinical use of inhaled nitric oxide.

for >60 patients. A filter at the outlet of the mechanical ventilator may increase the resistance to expiration and favor auto-positive end-expiratory pressure. Some authors questioned the need for scavenging NO and NO₂ at the mechanical ventilator outlet, because patients' rooms are most often well ventilated (15, 34), spacious enough for safe dilution of the exhausted NO (95), and because of the current tendency using low doses of inhaled NO. Snell et al. (61) measured NO and NO₂ concentrations in a test room when a NO concentration of 40 ppm was administered without using any scavenging system, and ambient air levels of NO and NO₂ were found to be 100-fold lower than the acceptable OSHA standards (5). On the other hand, these concentrations of NO and NO₂ measured by Snell et al. (61) may induce pulmonary irritation (96) and are close to the levels for home standards (97). The room volume for patient and healthcare workers could be confined (airplane, helicopter, ambulance, etc.) and no real data on inhaled NO toxicity are available. A closed-

circuit endotracheal care system (such as Trachcare™, Ballard Medical Products, Draper, UT) for endotracheal suctioning of inhaled NO-treated patients could be used to provide inhaled NO without interruption, and avoid staff exposure. A bronchoscopy adaptor has also been used (15). Environment monitoring at the patients' bedside should become a routine additional safety procedure.

CONCLUSIONS

Practical application of inhaled NO requires a reliable and safe delivery system. To date, most of the technical developmental investigations arose from research projects demonstrating the reliability of several delivery systems. It is now time for private industry and governmental agencies to take the necessary steps to ensure establishment of the proper clinical use of inhaled NO. The safety is essential with respect to the NO gas mixture cylinder (purity, stability, concentration limits, guaranteed calibration, specific color, and different available sizes), the specific connections and regulators (compatible materials, CGA standards). The quality of the delivery device will include the accuracy and the stability of the delivered NO concentration coupled with a minimal NO₂ production, as well as an adequate monitoring of NO and NO₂ concentrations, and FIO₂. Out of necessity, power, manual supply, and scavenging units for the exhaled gases must be readily available. Maintenance and calibration of delivery and monitoring devices are also essential.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to acknowledge Marie-Hélène Renaudin, Eng (L'Air Liquide S.A.), Nick Shalley, BSc (Ohmeda), Jacquelin Déry, Eng, and Laurent Mondou, Eng (Institut du N.O.), for their collaboration, as well as Neil G. Hartman, PhD, for his meticulous review of the manuscript.

REFERENCES

1. A.T.U.A.G.A.300: Autorisation Temporaire d'Utilisation du monoxyde d'azote médical, gaz pour inhalation (French). Toulouse, France, A.G.A. Médical S.A., 1996
2. Shibuki K, Okada D: Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum. *Nature* 1991; 349:326-329
3. Beckman JS: The physiological and pathological chemistry of nitric oxide. In: Nitric Oxide: Principles and Actions. Lancaster J Jr (Ed). San Diego, Academic Press, 1996, pp 1-82
4. Austin AT: The chemistry of the higher oxides of nitrogen as related to the manufacture, storage and administration of nitrous oxide. *Br J Anaesth* 1967; 39:345-350
5. Centers for Disease Control: NIOSH Recommendations for occupational safety and health standards. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1988; 37(Suppl.VII):1-29
6. Brisard P, Beltramo P, De Carlan H, et al: Préparation, conditionnement et critères de qualité du monoxyde d'azote utilisé à des fins thérapeutiques (French). *Revue Bio Médicale* 1993; 15:132-135
7. Petros AJ, Tulloh RMR, Wheatley E: Heli-NO: Enhanced gas exchange with nitric oxide in helium. *Anesth Analg* 1996; 83:888-889
8. Watkins DN, Jenkins IR, Rankin JM, et al: Inhaled nitric oxide in severe acute respiratory failure—Its use in intensive care and description of a delivery system. *Anaesth Intensive Care* 1993; 21:861-875
9. Braker W, Mossman A: The Matheson Gas Data Book. Sixth Edition. East Rutherford, NJ, Matheson Gas Products, 1980
10. Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S: Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37:687-691
11. Stenqvist O, Nathorst Westfelt U, et al: Safety aspects on nitric oxide administration. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995; 39:60-62
12. Frostell C: Nitric oxide inhalation—Future drug or an invitation to disaster? *Pediatr Anaesth* 1994; 4:147-150
13. Norman V, Keith CH: Nitrogen oxides in tobacco smoke. *Nature* 1965; 205:915-916
14. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Devices and Radiological Health Office of Device Evaluation: Anesthesiology and Respiratory Therapy Devices Panel of the Medical Devices Advisory Committee. Washington, Miller Reporting Company, November 22, 1996
15. Tibballs J, Hochmann M, Carter B, et al: An appraisal of techniques for administration of gaseous nitric oxide. *Anaesth Intensive Care* 1993; 21: 844-847
16. Wessel DL, Adatia I, Thompson JE, et al: Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide in patients with pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 1994; 22: 930-938
17. Petros AJ: Down-regulation of endogenous nitric oxide production after prolonged administration. *Lancet* 1994; 344:191
18. Miller OI, Tang SF, Keech A, et al: Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide. *Lancet* 1995; 346:51-52
19. Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, et al: Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338:1173-1174
20. Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, et al: Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs: A practical nitric oxide delivery and monitoring system. *Chest* 1994; 105:1842-1847
21. Nishimura M, Hess D, Kacmarek RM, et al: Nitrogen dioxide production during mechanical ventilation with nitric oxide in adults. *Anesthesiology* 1994; 82:1246-1254
22. Graybeal J, Schuler G, Larach DR: Instability of nitric oxide concentration delivered from a two-blender system. *Crit Care Med* 1995; 23:1611-1612
23. Putensen C, Räsänen J, Thomson MS, et al: Method of delivering constant nitric oxide concentrations during full and partial ventilatory support. *J Clin Monit* 1995; 11:23-31
24. Dubé L, Francoeur M, Troncy E, et al: Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Can J Anaesth* 1995; 42:922-927
25. McIntyre RC Jr, Moore FA, Moore EE, et al: Inhaled nitric oxide variably improves oxygenation and pulmonary hypertension in patients with acute respiratory distress syndrome. *Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* 1995; 39:418-425
26. Bigatello LM, Hurford WE, Kacmarek RM, et al: Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome: Effect on pulmonary hemodynamics and oxygenation. *Anesthesiology* 1994; 80:761-770
27. Body SC, Hartigan PM, Shernan SK, et al: Nitric oxide: Delivery, measurement, and clinical application. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9: 748-763
28. Skimming JW, Cassin S, Blanch PB: Nitric oxide administration using constant-flow ventilation. *Chest* 1995; 108:1065-1072
29. Nathorst Westfelt U, Lundin S, Stenqvist O: Safety aspects of delivery and monitoring of nitric oxide during mechanical ventilation. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:302-310
30. Bouchet M, Renaudin MH, Raveau C, et al: Safety requirement for use of inhaled nitric oxide in neonates. *Lancet* 1993; 341:968-969
31. Miller OI, Celermajer DS, Deanfield

- JE, et al: Guidelines for the safe administration of inhaled nitric oxide. *Arch Dis Child* 1994; 70:F47-F49
- Finer NN, Etches PC, Kamstra B, et al: Inhaled nitric oxide in infants referred for extracorporeal membrane oxygenation: Dose-response. *J Pediatr* 1994; 124:302-308
- Schragl E, Donner A, Kashanipour A, et al: The administration of nitric oxide in superimposed high-frequency jet ventilation. Technical principles and report on first clinical application (German). *Anaesthetist* 1995; 44: 843-849
- Young JD, Dyar OJ: Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide. *Intensive Care Med* 1996; 22:77-86
- Fernandez R, Artigas A, Blanch L: Ventilatory factors affecting inhaled nitric oxide concentrations during continuous-flow administration. *J Crit Care* 1996; 11:138-143
- Lopez-Herce J, Vazquez P, Vigil D, et al: Are the theoretical formulas for the calculation of inhaled nitric oxide useful? (Spanish) *Medicina Clinica* 1996; 107:797-798
- Sydow M, Bristow F, Zinserling J, et al: Variation of nitric oxide concentration during inspiration. *Crit Care Med* 1997; 25:365-371
- Young JD, Brampton WJ, Knighton JD, et al: Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br J Anaesth* 1994; 73:499-502
- Mourgeon E, Puybasset L, Renaudin MH, et al: Distribution of NO concentrations during 2 methods of NO inhalation. Abstr. *Br J Anaesth* 1994; 72(Suppl. I):10(A18)
- Rossaint R, Falke KJ, López FA, et al: Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328:399-405
- Rossaint R, Gerlach H, Schmidt-Ruhnke H, et al: Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 1995; 107:1107-1115
- Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, et al: Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 1993; 23:499-502
- Gerlach H, Pappert D, Lewandowski K, et al: Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1993; 19:443-449
- Ivarsson I: Gas delivery system for NO. In: Nitric Oxide Measurement and Experimental Delivery Systems. Philadelphia, IBC's 4th Annual Conference, 1995
- Lindberg L, Rydgren G, Larsson A, et al: A delivery system for inhalation of nitric oxide evaluated with chemiluminescence, electrochemical fuel cells, and capnography. *Crit Care Med* 1997; 25: 190-196
46. Hagenah J-U: Delivery systems and measuring methods for nitric oxide. In: Nitric Oxide Measurement and Experimental Delivery Systems. Philadelphia, IBC's 4th Annual Conference, 1995
47. Germann P, Balassa A, Pöschl G, et al: A new system for differentiated application and continuous measurement of nitric oxide and nitrogen dioxide. Abstr. *Anesthesiology* 1994; 81:A556
48. Body S, Russell R, Harlan E, et al: Sodalime depletes nitric oxide in a circle system. Abstr. In: Society of Cardiovascular Anesthesiologists 16th Annual Meeting Compendium. Montréal, Society of Cardiovascular Anesthesiologists 16th Annual Meeting, 1994, p 272
49. Clutton-Brock J: Two cases of poisoning by contamination of nitrous oxide with higher oxides of nitrogen during anaesthesia. *Br J Anaesth* 1967; 39: 388-392
50. Kain ML: Higher oxides of nitrogen in anaesthetic gas circuits. *Br J Anaesth* 1967; 39:382-387
51. Kinsella JP, Schmidt JM, Griebel J, et al: Inhaled nitric oxide treatment for stabilization and emergency medical transport of critically ill newborns and infants. *Pediatrics* 1995; 95:773-776
52. Lundin S, Kjelltoft B, Nathorst Westfelt U, et al: Emergency dosage system for nitric oxide (NO) inhalation. Abstr. *Br J Anaesth* 1995; 74(Suppl II):122(A402)
53. Flaatten H, Gjerde S, Gullestad S, et al: Surgery during inhalation with nitric oxide in a patient with severe adult respiratory distress syndrome (ARDS). *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40: 376-378
54. Higenbottam T, Pepke-Zaba J, Scott J, et al: Inhaled "endothelium-derived relaxing factor" (EDRF) in primary hypertension (PPH). Abstr. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:107
55. Glasson WA, Tuesday CS: The atmospheric thermal oxidation of nitric oxide. *J Am Chem Soc* 1963; 85:2901-2904
56. Foubert L, Fleming B, Latimer R, et al: Safety guidelines for use of nitric oxide. *Lancet* 1992; 339:1615-1616
57. Miyamoto K, Aida A, Nishimura M, et al: Effects of humidity and temperature on nitrogen dioxide formation from nitric oxide. *Lancet* 1994; 343:1099-1100
58. Renaudin MH: Propriétés physico-chimiques du monoxyde d'azote. In: Le Monoxyde D'azote en Anesthésie-réanimation (French). Balagny E (Ed). Paris, Arnette, 1994, pp 1-8
59. Borland CDR, Higenbottam TW: A simultaneous single breath measurement of pulmonary diffusing capacity with nitric oxide and carbon monoxide. *Eur Respir J* 1989; 2:56-63
60. Adatia I, Perry S, Landzberg M, et al: Inhaled nitric oxide and hemodynamic evaluation of patients with pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1656-1664
61. Snell GI, Salamonsen RF, Berg P, et al: Inhaled nitric oxide used as a bridge to heart-lung transplantation in a patient with end-stage pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1263-1266
62. Hallman M, Waffarn F, Bry K, et al: Surfactant dysfunction after inhalation of nitric oxide. *J Appl Physiol* 1996; 80:2026-2034
63. Channick RN, Hoch RC, Newhart JW, et al: Improvement in pulmonary hypertension and hypoxemia during nitric oxide inhalation in a patient with end-stage pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 811-814
64. Winberg P, Lundell BPW, Gustafsson LE: Effect of inhaled nitric oxide on raised pulmonary vascular resistance in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1994; 71:282-286
65. Leitner C, Ziesche R, Roeder G, et al: Cardiopulmonary improvement by combination of long-term oxygen therapy (LTOT) and nitric oxide (NO) inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. Abstr. *Anesthesiology* 1995; 83:A202
66. Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, et al: Pulsed delivery of inhaled nitric oxide to patients with primary pulmonary hypertension: An ambulatory delivery system and initial clinical tests. *Chest* 1996; 109:1545-1549
67. Fontijn A, Sabadell AJ, Ronco RJ: Homogeneous chemiluminescent measurement of nitric oxide with ozone: Implications for continuous selective monitoring of gaseous air pollutants. *Anal Chem* 1970; 42:575-579
68. Hutte RS: Techniques for the measurement of nitric oxide and its reaction products. In: The Biology of Nitric Oxide. Part 5. Moncada S, Stamler J, Gross S, Higgs EA (Eds). London, Portland Press, 1996, pp 172-174
69. Kita D: Chemiluminescence NO/NO₂ measurement. In: Nitric Oxide Measurement and Experimental Delivery Systems. Philadelphia, IBC's 4th Annual Conference, 1995
70. Goldman AP, Macrae DJ: Nitrogen dioxide measurement in breathing systems. *Lancet* 1994; 343:850
71. Miller CC: Chemiluminescence analysis and nitrogen dioxide measurement. *Lancet* 1994; 343:300-301
72. Etches PC, Harris ML, McKinley R, et al: Clinical monitoring of inhaled nitric oxide: Comparison of chemiluminescent and electrochemical sensors. *Biomed Instr Technol* 1995; 29:134-140
73. Puybasset L, Rouby JJ, Mourgeon E, et al: Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:318-328

74. Law-Koune JD, Rouby JJ, Lu Q, et al: Measurement of inspiratory and expiratory concentrations of inhaled NO in patients with ARDS. *Abstr. Br J Anaesth* 1995; 74(Suppl II):123(A404)
75. Archer S: Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993; 7:349-360
76. Petros AJ, Cox PB, Bohn D: Simple method for monitoring concentration of inhaled nitric oxide. *Lancet* 1992; 340:1167
77. Dräger: Polytron Instructions for Use. Second Edition. Lübeck, Drägerwerk AG, 1990
78. Petros AJ, Cox P, Bohn D: A simple method for monitoring the concentration of inhaled nitric oxide. *Anaesthesia* 1994; 49:317-319
79. Mercier JC, Zupan V, Dehan M, et al: Device to monitor concentration of inhaled nitric oxide. *Lancet* 1993; 342:431-432
80. Fajardo CA, Prokopowich J, Belik J: Inhaled nitric oxide monitoring. *Clin Invest Med* 1995; 18:114-121
81. Gérard JL, Hanouz JL, Flais F, et al: Does volatile anesthetics interfere with monitoring of nitric oxide. *Abstr. Anesthesiology* 1994; 81:A557
82. Gérard JL, Hanouz JL, Flais F, et al: Does nitric oxide interfere with monitoring of volatile anesthetic agents? *Abstr. Anesthesiology* 1994; 81:A558
83. Pickett JA, Moors AH, Latimer RD, et al: The role of soda lime during administration of inhaled nitric oxide. *Br J Anaesth* 1994; 72:683-685
84. Motsch J, Bach A, Böhrer H, et al: Reduction of nitric dioxide formation during nitric oxide inhalation. *Abstr. Anesthesiology* 1994; 81:A1268
85. Pickett JA, Mahmood N, Latimer RD, et al: Effective absorption of nitrogen dioxide with soda lime. *Br J Anaesth* 1995; 74:107-108
86. Ishibe Y, Sato T: Effective absorption of nitrogen dioxide with soda lime. *Br J Anaesth* 1995; 74:107
87. Ishibe Y, Sato T, Hayashi T, et al: Absorption of nitrogen dioxide and nitric oxide by soda lime. *Br J Anaesth* 1995; 75:330-333
88. Goldman AP, Cook PD, Macrae DJ: Exposure of intensive-care staff to nitric oxide and nitrogen dioxide. *Lancet* 1995; 345:923-924
89. Foubert L, Mareels K, Latimer R, et al: Evaluation of soda lime as a nitric oxide and nitrogen dioxide scavenger. *Abstr. Br J Anaesth* 1995; 74 (Suppl. II):2(A3)
90. Dhillon JS, Kronick JB, Singh NC, et al: A portable nitric oxide scavenging system designed for use on neonatal transport. *Crit Care Med* 1996; 24:1068-1071
91. Poulton BB, Foubert L, Klinowski J, et al: Extraction of nitric oxide and nitrogen dioxide from an oxygen carrier using molecular sieve 5A. *Br J Anaesth* 1996; 77:534-536
92. Squire S, Kightley R, Petros AJ: An effective method of scavenging nitric oxide. *Br J Anaesth* 1996; 77:432-434
93. Vaahs T, Schleicher A, Frank G, et al: *noXon: The NO₂-filter material for a safe application of NO-gas and first results under clinical conditions. *In: The Biology of nitric oxide Part 5*. Moncada S, Stamler J, Gross S, et al (Eds). London, Portland Press, 1996, p 318
94. Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, et al: Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide? *Lancet* 1997; 350:111-112
95. Leslie AM: A portable nitric oxide scavenging system designed for use on neonatal transport. *Crit Care Med* 1997; 25:375-376
96. Devalia JL, Campbell AM, Sapsford RJ, et al: Effect of nitrogen dioxide on synthesis of inflammatory cytokines expressed by human bronchial epithelial cells *in vitro*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9:271-278
97. Alberts WM: Indoor air pollution: NO, NO₂, CO, and CO₂. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94:289-295

Appendix. Suppliers of nitric oxide (NO) gas mixture cylinder, inhaled NO delivery systems, NO and/or nitrogen dioxide (NO₂) scavengers, and NO and/or NO₂ monitors seen in the literature are presented in alphabetical order

SUPPLIERS OF NO GAS MIXTURE CYLINDER

*current Good Manufacturing Practice grade

*AGA Gas A.B., Solna, Sweden

was also reported as: AGA Gas A.B., Lidingö, Sweden; AGA Gas A.B., Bottrop, Germany; AGA Medical S.A., Toulouse, France; AGA Gas, Maumee, OH

Air Products, Walton on Thames, UK

was also reported as: Air Products, Allentown, PA

*BOC Special Gases, Guildford, UK

was also reported as: Airco, Murray Hill, NJ; Airco, Riverton, NJ; BOC Special Gases, Merton, UK; BOC Gases, Port Allen, LA; BOC Gases, Murray Hill, NJ; BOC Gases, Riverton, NJ; Ohmeda, Liberty Corner, NJ; BOC Medical Gases, Chatsworth, Australia; Commonwealth Industrial Gases, Sydney, Australia

Compagnie Française des Produits Oxygénés, Meudon, France

General Air, Denver, CO

Higher Analytical, Margate, UK

Jackson Welding, Pittsburgh, PA

L'Air Liquide S.A., Les Loges-en-Josas, France

was also reported as: Air Liquide, Haaren, Belgium; Vadinal-A, L'air Liquide S.A., Barcelona, Spain; Alphagaz, La Porte, TX; Gilmore Liquid Air, San Gabriel, CA; VitalAire Santé, Montréal, PQ, Canada

Liquid Carbonics, Smithville, OH

was also reported as: Liquid Carbonics, Toronto, ON, Canada

Matheson Gas Products, East Rutherford, NJ

was also reported as: Matheson Gas Products, Gloucester, MA

Messer Griesheim, Frankfurt-Griesheim, Germany
 was also reported as: Messer Griesheim, Rhein-Felden, Germany; Messer Griesheim, Siegen, Germany; Messer Griesheim, Ludwigshafen, Germany; Pulmonix forte, Messer Griesheim, Vienna, Austria
 MG Industries, Malvern, PA
 National Specialty Gases, Durham, NC
 Roberts Oxygen, Rockville, MD
 Scott Specialty Gases, Plumsteadville, PA
 was also reported as: Scott Medical Products, Plumsteadville, PA
 Sumitomo Seika, Chiba, Japan
 Taiyo-Toyo Sanso, Osaka, Japan
 Western Australian Cies., Perth, Australia

INHALED NO DELIVERY SYSTEMS

AeroNOx Transport System™, Pulmonox Medical, Tofield, AB, Canada
 Blender 3800™, Bird Corp., Palm Springs, CA
 Blender model 961™, Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden
 DelNO2000™, SensorMedics B.V., Bithoven, The Netherlands
 was also reported as: SensorMedics, Anaheim, CA
 Ecotech 8370™, Melbourne, Australia
 Gas module, Servotek A.B., Arlöv, Sweden
 iNOJECTOR™, Institut du N.O., Montréal, PQ, Canada
 I-NOvent™, Ohmeda, Liberty Corner, NJ
 Low Flow MicroBlender™, Bird, Palm Springs, CA
 NAMU™, Messer-Griesheim/Nellcor Puritan Bennett, Kirkland, PQ, Canada
 Nebulizer 945™, Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden
 NOdomo™, Dräger A.G., Lübeck, Germany
 NOMIUS C™, DanSjø Medical, Järfällä, Sweden
 NO-N₂ rotameter, Precision Medical, Northampton, PA
 Noresc 1503™, DanSjø Medical, Järfällä, Sweden
 Opti-NO™, L'Air Liquide S.A., Les-Loges-en-Josas, France
 PneuPAC, Luton, UK
 Pulmonox™, Messer-Griesheim, Vienna, Austria
 PulmoNOx IIIb™, Pulmonox Medical Corporation, Tofield, AB, Canada
 Servo Ventilator 300™ with NO option, Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden
 was also reported as: Siemens Medical Systems, Danvers, MA

NO AND/OR NO₂ SCAVENGERS

ªsoda lime; ºcharcoal; ºnew filters; ºexhaust
 ºABEK HgCONO-P3™, Dräger Industrial, Blyth, UK
 ºCharcoal filter 633™, Draeger Medical, Hertfordshire, UK
 ºDraeger-sorb, Draeger Medical, Hemel, UK
 ºIntersorb™, Intersurgical, Wokingham, UK
 ºMolecular sieve 5A™, BDH Chemicals, Poole, UK
 ºnoXon™, Hoechst A.G., Frankfurt, Germany
 ºPermasorb™ Chemisorbent Media, Filtration Systems, Norcross, GA
 ºPurafil, Atlanta, GA
 ºQ-sorb™, Anmedic A.B., Vallentuna, Sweden
 ºScavenger Vacuum Interface, Boehringer Laboratories, Wynnwood, PA
 was also reported as: Boehringer Laboratories, Norristown, PA
 ºServo Evac 180™, Siemens-Elema A.B., Solna, Sweden
 ºSoda lime, Dewey and Almy Chemical, Atlanta, GA
 ºSoda Sorb™, Grace S.A., Lexington, UK
 ºSofnolime™, Molecular Products, Thaxted, UK
 ºWako lime-A™, Wako Junyaku Co., Osaka, Japan

NO AND/OR NO₂ MONITORS

^achemiluminescent; ^belectrochemical; ^cinfrared; ^dUV

- ^a400 AM NO_x analyzer™, Signal Instrument Co., Camberley, UK
^aAC2 analyzer™, Environnement S.A., Poissy, France
^cBinos NO™, Leybold-Horeans Co., Hanau, Germany
^cBinos NO₂™, Leybold-Horeans Co., Hanau, Germany
^aChemiluminiscence analyzer, Chemlab, Hornchurch, UK
^aCIG, Sydney, Australia
^bCiTiceLs™, City Technology, Portsmouth, UK
^bCity Technology Electrochemical Cell™, Gasalarms Systems, New Carney, TX
^aCLA-510 SS™, Horiba, Kyoto, Japan
^aCLV-500™, Shimazu, Tokyo, Japan
^bECC Ecom-CD rbr-Computer technik GmbH™, Iserlohn, Germany
^bInnovative Medical Marketing, Medford, NJ
^cIR instruments UNOR6N™, Maihak Co., Hamburg, Germany
^bMicro Gas™, Micro-medical, Rochester, UK
^aModel 14A™, ThermoEnvironmental Instruments, Franklin, MA
^aModel 14B/E™, Thermo Electron Corp., Franklin, MA
^aModel 42™, ThermoEnvironmental Instruments, Franklin, MA
^aModel 42H™, ThermoEnvironmental Instruments, Franklin, MA
^aModel 42M™, ThermoEnvironmental Instruments, Franklin, MA
^aModel 200 series™, Advanced Pollution Instruments, San Diego, CA
^aModel 270B NOA™, Sievers Instruments, Boulder, CO
^aModel 280 NOA™, Sievers Instruments, Boulder, CO
^aModel 952A™, Beckman Instruments, Process Instruments & Controls Groups, Fullerton, CA
^aModel 2108™, Dasibi Environmental, Glendale, CA
^aModel 8840™ Monitor Laboratories, Columbia Scientific Instruments, Austin, TX
^bModel AR-PRN-1™, B & W Technologies, Calgary, AB, Canada
^aModel CLA Thermica 8430 H™, Monitor Laboratories Industry, San Diego, CA
^bModel EC40™, Bedford Scientific, Upchurch, UK
^bModel EC90™, Bedford Scientific, Upchurch, UK
^bModel GS8641 NO™, Bieler & Lang, Achern, Germany
^bModel GS8650 NO₂™, Bieler & Lang, Achern, Germany
^bModel L8120™, Bieler & Lang, Achern, Germany
^aModel M10™, ThermoEnvironmental Instruments, Franklin, MA
^aModel ML 9841A™, Lear-Siegler-Measurements Controls Corporation, Englewood, CO
^aModel TEI42™, Thermo Electron Corp., Franklin, MA
^aMulti Analytical, Mountain View, CA
^aNO_x 2000 analyzer™, Sérès, Aix-en-Provence, France
^aNO_x 4000 analyzer™, Sérès, Aix-en-Provence, France
^aNO_x analyzer 305A™, Shimazu, Tokyo, Japan
^bNO_xBox™, Bedford Scientific, London, UK
 was also reported as: Bedford Scientific Ltée., Toulouse, France
^bPac II™, Dräger A.G., Lübeck, Germany
^bPolytron NO/NO₂™, Dräger A.G., Lübeck, Germany
^bPulmoNO_x II_{IR}™, Pulmonox Medical Corporation, Tofield, AB, Canada
^bSensorNO_x™, SensorMedics B.V., Bilthoven, The Netherlands
^bSensor Stik 4586 (NO)™, Exidyne Instrumentation Technologies, Exton, PA
^bSensor Stik 4584 (NO₂)™, Exidyne Instrumentation Technologies, Exton, PA
^aTECAN CLD 700AL™, Eco Physics A.G., Dürnten, Switzerland
^bTM-100™, Taiyo-Sanso Co., Osaka, Japan
^aTopaze 2020™, Cosma S.A., Igny, France
^aUPK 3100 NO analyzer™, UPK, Bad Nauheim, Germany

Chapitre 2

ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

2.0 Comparaison de deux techniques d'administration du monoxyde d'azote inhalé sur la production de dioxyde d'azote (NO₂).

Par sa participation à cette étude, le Docteur Éric Troncy s'est familiarisé avec les diverses techniques d'administration du NO inhalé. Il fut en charge de l'élaboration du design expérimental, de sa validation et de l'analyse statistique des résultats ainsi que de leur interprétation. Il participa également de façon très active à l'écriture du manuscrit, particulièrement en ce qui a trait à l'illustration graphique.

Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production

Luc Dubé PhD, Martin Francoeur RRT,†
Eric Troncy DVM MSc,† Raymond Carrier MSc,*
Gilbert Blaise MD†

The purpose of this study was to verify whether, compared with the introduction of the NO-N₂ mixture at the air inlet of the ventilator (classical method), a direct injection of NO-N₂ into the inspiratory line of the ventilator circuit with a new injection device (new method), would reduce NO₂ formation by reducing contact time between O₂ and NO. The effect of two FIO₂ (0.21 and 0.90) and NO concentrations on NO₂ production was determined. In the classical method, NO and O₂ were mixed with an air/oxygen blender before the gas mixture entered the ventilator. In the new method, NO was injected directly into the inspiratory line with the injection system. Nitric oxide and nitrogen dioxide gases were measured using a chemiluminescence analyzer. For a FIO₂ of 0.90 and 90 ppm of NO, the amount of NO₂ produced was decreased from 8.9 ± 0.8 ppm (mean ± SD) with the classical injection system to 4.4 ± 0.2 ppm with the new injection system (P = 0.0039, Mann-Whitney test), and NO₂ production was decreased from 4.5 ± 0.2 ppm to 2.1 ± 0.4 ppm (P = 0.02) at 60 ppm of NO. However, at a FIO₂ of 0.21, no difference was found in the amount of NO₂ produced. We conclude that, compared with the classical method of NO administration, the new NO injection system reduces considerably the concentration of inhaled NO₂ when a high FIO₂ and a high concentration of NO are used.

Cette étude avait pour but de vérifier, si, comparativement à la méthode d'introduction du mélange NO-N₂ par l'orifice d'admission d'air du ventilateur (méthode usuelle), l'injection directe du NO-N₂ dans la branche inspiratoire du circuit du ventilateur grâce à un nouveau dispositif d'injection (nouvelle méthode), réduisait la formation de NO₂ en diminuant la phase de contact entre O₂ et NO. L'influence de deux FIO₂ (0,21 et 0,90) et de différentes concentrations de NO a été établie. Dans la méthode usuelle, NO et O₂ sont réunis à l'aide d'un mélangeur d'air et d'oxygène avant leur introduction dans le ventilateur. Dans la nouvelle méthode, NO est injecté directement dans la branche inspiratoire grâce au dispositif d'injection. L'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote ont été mesurés par chimiluminescence. Pour une FIO₂ de 0,90 et 90 ppm de NO selon la méthode usuelle, la quantité de NO₂ produite avec le nouveau système d'injection a diminué de 8,9 ± 0,8 ppm (moyenne ± ET) à 4,4 ± 0,2 ppm (P = 0,0039, épreuve de Mann-Whitney) alors qu'à 60 ppm de NO, la production de NO₂ est passée de 4,5 ± 0,2 ppm à 2,1 ± 0,4 ppm (P = 0,02). Cependant, sous une FIO₂ de 0,21, on n'a pas trouvé de différence en rapport avec la production de NO₂. Les auteurs concluent que, comparativement à la méthode usuelle d'administration du NO, la nouvelle méthode par injection diminue considérablement la concentration inspirée de NO₂, lorsque la FIO₂ et la concentration de NO sont toutes les deux élevées.

Key words

GASES: nitric oxide, nitrogen dioxide, oxygen;
TOXICITY: nitrogen dioxide;
EQUIPMENT: blenders, injection systems, ventilators.

From the Biomedical Physics Department* and Anaesthesia Department,† Notre-Dame Hospital, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada.

Address correspondence to: Dr. Gilbert Blaise, Department of Anaesthesia, Notre-Dame Hospital, 1560 Sherbrooke Street East, Montreal, Quebec, Canada H2L 4M1.

Accepted for publication 9th June, 1995.

Nitric oxide (NO) is a vasodilator released from the guanido-terminal group of L-arginine by NO synthase.¹ It has a major role in cardiovascular physiology and pharmacology.¹⁻⁴ In the lung, nitric oxide opposes hypoxic vasoconstriction,⁵ attenuates the response to vasoconstrictors⁶ and maintains the pulmonary artery pressure low at rest and during exercise.⁷ Several nitrovasodilators such as nitroglycerin and sodium nitroprusside are donors of NO,⁸ which is the active moiety of these molecules. Nitric oxide then activates intracellular guanylate cyclase which increases the intracellular level of cGMP. This latter substance is known for being a very potent vasodilator.⁹ Several new NO donors have been investigated, some of

which are already in clinical use.¹⁰ Nitric oxide can also be administered as a gas in the inspiratory line to mechanically ventilated patients.

Nitric oxide has many interesting physical properties. It is a reactive free radical and reacts readily with oxygen (O₂) to form nitrogen dioxide (NO₂). Nitrogen dioxide is a potential toxic substance, and its concentration should be kept <5 ppm as recommended by the US Occupational Safety and Health Administration.¹¹ The amount of NO₂ in the inspiratory gas depends on the cylinder concentration of NO₂ and on the production of NO₂ after the introduction of NO into the ventilator or directly into the inspiratory line. The amount of NO₂ produced is proportional to the concentration of O₂, to the square of the concentration of NO, and the time of contact between the two gases.¹² The reaction is $2\text{NO} + \text{O}_2 = 2\text{NO}_2$.

Very often, a mixture of NO-N₂ delivered by an air/oxygen gas blender has been introduced into the air inlet of the mechanical ventilator.^{13,14} Some have used the cyclic flow of the nebuliser to introduce the NO-N₂ mixture at the inspiratory phase.¹⁶ As an injector specifically designed to deliver NO was not available, we designed and built a new NO injection system.

Our objective was to develop an injection system that would be simple, reliable, adaptable to any ventilator or anaesthesia machine, and which could reduce NO₂ production. We compared the measured concentration of NO₂ in the inspiratory gas when NO was added to the air inlet of the ventilator, with the concentration of NO₂ when NO was injected directly into the inspiratory line during the inspiratory phase with the new NO injection system.

Our hypothesis was that NO directly injected into the inspiratory line during the inspiratory phase by the new injector would reduce the contact time between NO and O₂, and therefore, reduce NO₂ production.

Methods

Classical injection system

A mixture of NO and N₂ delivered from an air/O₂ mixer (Siemens-Elma model 961), was added to the mechanical ventilator at the air inlet. This NO-N₂ mixture was then mixed with O₂ by the ventilator proportional solenoid valve assembly (Figure 1). Inspiratory gases were not humidified.

New injection system

A mixture of NO-N₂ was directly injected into the inspiratory line of the ventilator circuit. In this new injection system, NO injection is cyclic, occurring only during the inspiratory phase of the mechanical ventilator (Figure 2). The flow was manually adjusted using a precision flowmeter made with teflon (Cole-Parmer, Niles, Illinois).

No Delivery System

27

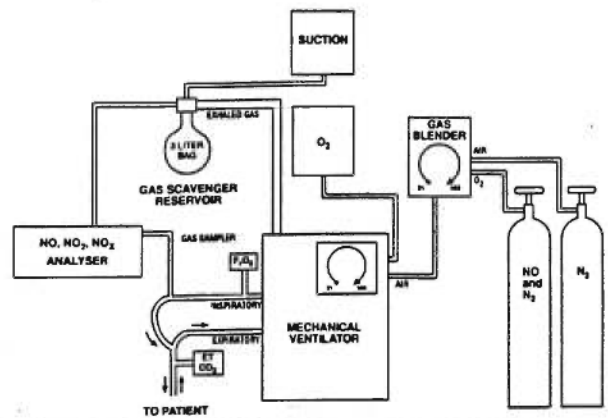


FIGURE 1 The classical injection system. The NO cylinder was blended with a N₂ cylinder before entering the ventilator air inlet.

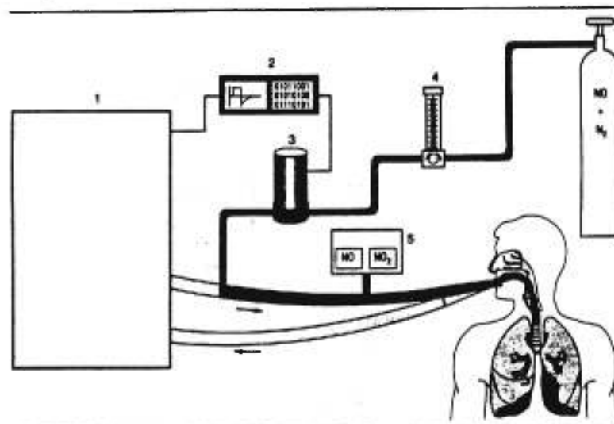


FIGURE 2 The new injection system. An electronic circuit (2) detects the beginning and the end of each inspiration by processing the signal coming from the 7200 AE ventilator flow sensor (1). During the inspiratory phase, the electronic circuit opens the solenoid valve, which is closed when not activated (normally closed Teflon PTFE valve, Cole-Parmer, Niles, Illinois) (3) and NO is injected into the inspiratory line 60 cm upstream of the sampling site. At the end of the inspiratory phase, the circuit closes the solenoid valve and the injection of NO is stopped. The flow was manually adjusted using a precision flowmeter (4) made with teflon (Cole-Parmer, Niles, Illinois). The concentrations of NO and NO₂ were continuously monitored using a chemiluminescence analyser (5).

Description of protocol

The ventilator used in this experiment was a Puritan-Bennett (model 7200AE, Carlsbad, California) with a disposable ventilation circuit (Puritan-Bennett #3030) and a test lung. The new injection system could also function with any ventilator or anaesthesia machine that possesses

an analogue flow signal output. All experiments were performed with a respiratory rate of 14 per minute, a tidal volume of 600 ml, an oxygen concentration of 21% or 90% (oxygen monitor, Hudson RCI #5590, Temecula, Ca), and an I/E ratio of 1/4. The NO cylinder was a NO/N₂ mixture at a concentration of 972 ppm of NO and with minimal quantity of NO₂ (<5 ppm) certified by the gas company (Air Liquide, Montreal).

The concentrations of NO and NO₂ were continuously monitored using a chemiluminescence analyser (Tecan AG model CLD 700 AL, Eco Physics, Switzerland). This analyser can measure from 1 ppb to 100 ppm, with a linearity better than 1%, at a sampling rate of 660 ml · min⁻¹, and was calibrated every day with a gas mixture consisting of 89 ppm of NO and 5 ppm of NO₂ (Air Liquide, Montreal).

The NO and NO₂ gases were measured in the inspiratory line 15 cm upstream of the Y piece. In order to avoid mixture of inspiratory gases with expiratory gases, a uni-directional valve was installed in the inspiratory line just before the Y piece.

Measurements of NO₂ were done for increasing values of NO (from 0 to 90 ppm). After completion of a set of measurements the NO was adjusted back to 0 ppm. At least five sets of measurements were done at the two FiO₂ levels (0.21 and 0.90).

Statistics

Due to the small sample size, at each point of NO administration, the different values of NO₂ production obtained by the two systems, were compared with a Mann-Whitney test (significance level $\alpha = 0.05$). Results are presented as mean \pm SD of NO₂ production for each method of NO administration, at two levels of FiO₂.

Safety

In order to know how well the solenoid mechanism and the electronic circuit perform over time, the injection system was tested for six weeks in the biomedical engineering laboratory. After that, the system was used in experiments using pigs (30) for >6 months. The injection system is CSA (Canadian Standard Association) approved. Also the injector is being used in a clinical trial, and up to now 15 patients have been treated with the system for a total of 3000 hr without any technical problems.

The NO-N₂ gas pressure, in the injection circuit, was set to one third of the maximum working pressure of the solenoid valve as recommended by the manufacturer (at 10 lbs · in⁻²). Under these conditions, the solenoid valve lifespan should be at least 30 days of continuous operation.

The injection device has two alarms, the first is triggered by an injection time of >7 sec and the second

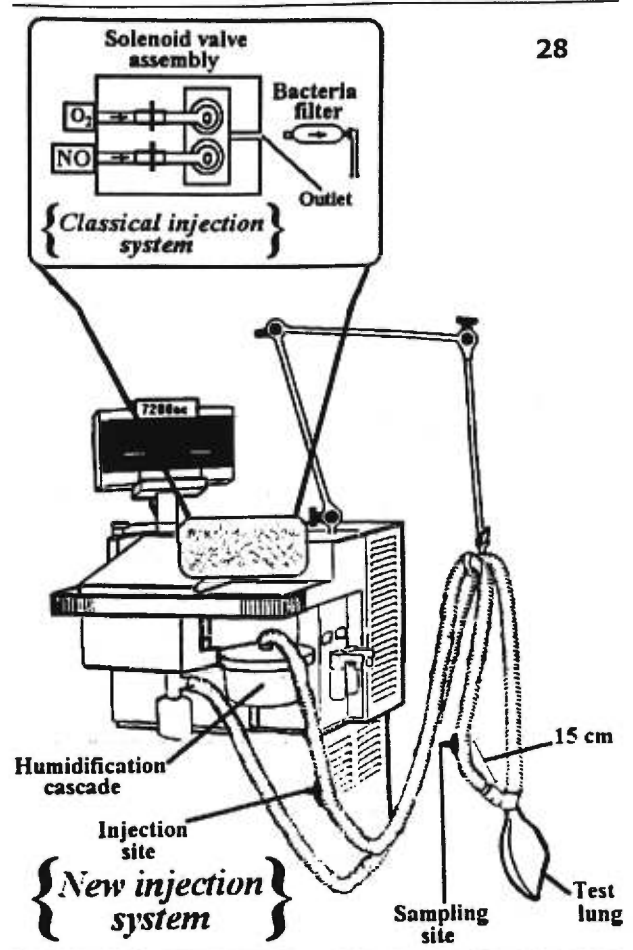


FIGURE 3 Gas mixing diagram for the classical and the new injection systems. With the classical system, NO and O₂ interact after the solenoid valve assembly up to the sampling site in the inspiratory line of the ventilator circuit (approximately 2755 ml). With the new injection system, NO and O₂ interact only from the injection site to the sampling site.

if the time between injections is >30 sec. If the injection system fails an emergency kit is available for immediate installation and for continuous injection of NO in the inspiratory line.

Contact time between NO and O₂

The contact time between NO and O₂ was estimated and measured.

With the classical system, NO and O₂ are in contact between the ventilator solenoid valve assembly, where normally O₂ and air are mixed, and the sampling site in the inspiratory line of the ventilator circuit (Figure 3). From the solenoid valve assembly a 10 cm tube (35 ml) leaves the ventilator, then the inspiratory gas passes through a bacterial filter (approx. 400 ml) and a 60 ml

ube between the filter and the humidification cascade (1700 ml), and then to the inspiratory line (560 ml) of the ventilator circuit. The total volume in which NO and O₂ can interact is approximately 2755 ml. With the ventilator settings used (14 breaths per minute, tidal volume of 600 ml and an I/E ratio of 1/4), a time of approximately 21.5 sec, for the inspiratory gas to flow from the outlet of the ventilator to the sampling site, was anticipated for the classical injection system: it would take five breaths before NO reaches the sampling site.

To verify this the time for NO to reach the outlet of the ventilator just before the bacteria filter (after turning the blender knob from 21% to 30%), and the time for NO to disappear completely from the outlet (after turning the blender knob back to 21%) were measured. Also, the time for NO to reach the sampling site, and the time for NO to disappear completely from the sampling site was measured. For this purpose we used the Sievers NOA 70B nitric oxide analyzer, with a response time of 200 msec for 90% of fullscale.

Results

Both nitric oxide delivery systems were able to deliver concentrations of NO from 0 to 100 ppm. The adjustment was more difficult with the classical system, because no precise blender for NO/N₂ exists. As expected, the increased concentration of NO and O₂ delivered into the circuit induced an increase in the production of NO₂. The total number of measurements at a FiO₂ of 0.90 were 44 for the classical system and 36 for the new injection system. At a FiO₂ of 0.21, the total number of measurements were 37 for the classical system and 73 for the new injection system.

As seen on the curve of best fit (Figure 4) and on the bar graph (Figure 5), for a FiO₂ of 0.90 and 60 ppm of NO, the amount of NO₂ produced was decreased from 1.5 ± 0.2 to 2.1 ± 0.4 ppm with the new injection system ($P = 0.02$). The difference was also statistically significant ($P = 0.0495$) with a NO concentration of 80 ppm. At 90 ppm of NO, the amount of NO₂ produced was decreased from 8.9 ± 0.8 with the classical injection system to 4.4 ± 0.2 ppm with the new injection system ($P = 0.0039$). The lowest concentration of NO for which there was a difference in the quantity of NO₂ produced was 50 ppm.

No difference in NO₂ production was found between the two NO delivery systems at a FiO₂ of 0.21 (Figures 5 and 7), except with a NO concentration of 50 ppm ($P = 0.02$). This difference does not correlate with the other values obtained at a FiO₂ of 0.21, and may be due to the small sample size.

With the classical system, the fresh NO-N₂ gas mixture from the blender took 6.6 ± 0.5 sec ($n = 5$) to reach

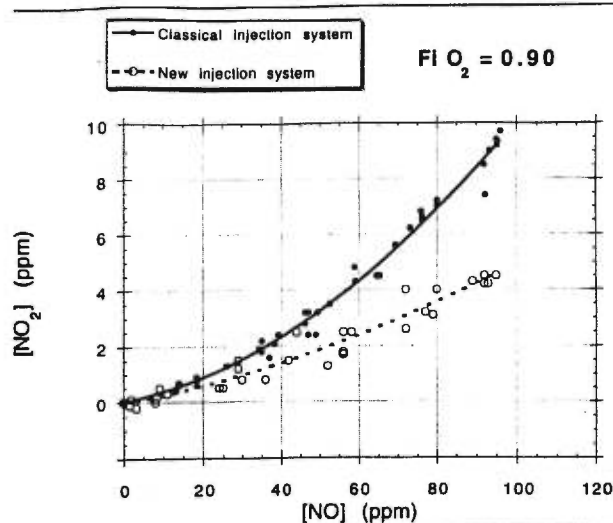


FIGURE 4 Curve of best fit of the nitrogen dioxide concentration as a function of the nitric oxide concentration for the classical (●) and the new injection (○) systems, with FiO₂ of 0.90.

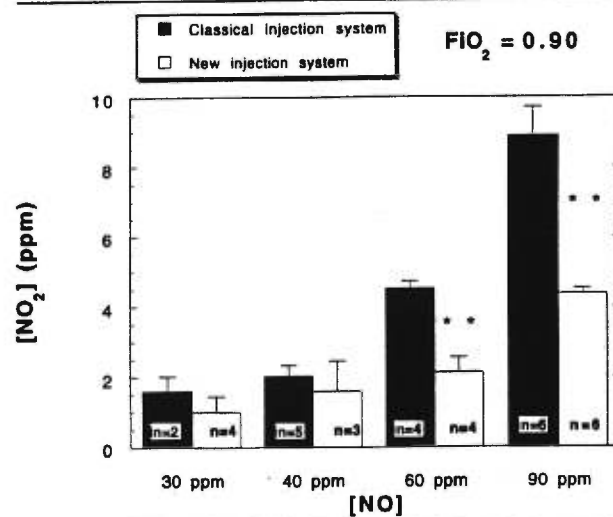


FIGURE 5 Bar graph of the nitrogen dioxide concentration as a function of the nitric oxide concentration for the classical and the new injection systems, with FiO₂ of 0.90. ** $P < 0.05$.

the outlet of the ventilator, and 12.6 ± 0.8 sec to reach the sampling site. The real contact time between NO and O₂ was therefore 6.0 ± 1.3 sec. If the humidification cascade was removed, the contact time was reduced to 4.0 ± 1.0 sec.

We also observed that after turning off the NO supply (from 30% to 21% on the blender), it took 58.4 ± 2.1 sec to flush the ventilator circuit completely (2755 ml) with NO-free gas, and that the contact time between NO and O₂ could be as long as one minute.

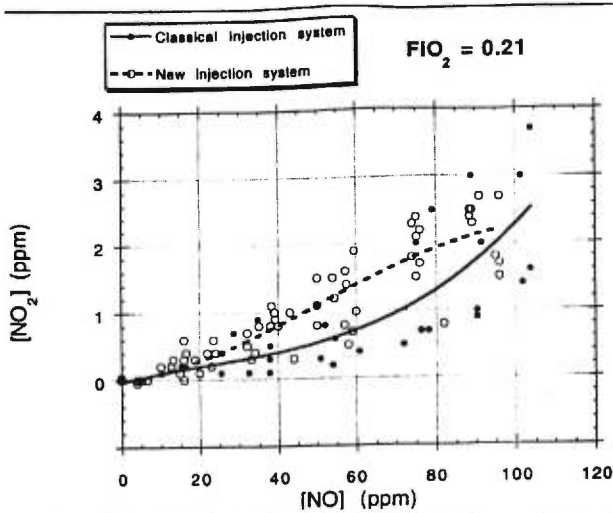


FIGURE 6 Curve of the best fit of nitrogen dioxide concentration as a function of nitric oxide concentration for the classical (●) and the new injection (○) systems, with FI_{O_2} of 0.21.

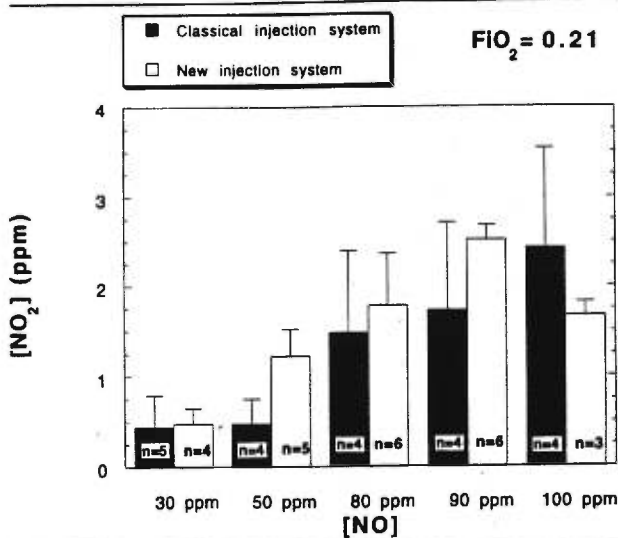


FIGURE 7 Bar graph of nitrogen dioxide concentration as a function of nitric oxide concentration for the classical and the new injection systems, with FI_{O_2} of 0.21.

With the new injection system, NO concentration increased during inspiration, and decreased to zero at the end of inspiration. The contact time between NO and O_2 was therefore the inspiration time (0.86 sec).

Discussion

The main finding of this study is that the new injection system reduces considerably the concentration of inhaled NO_2 , and can effectively deliver any concentration of NO, when compared with the classical injection system. The

contact time between NO and O_2 can be reduced by directly injecting NO into the inspiratory line during the inspiratory phase, instead of adding NO/ N_2 at the air entry of the mechanical ventilator.

During any therapy using inhaled NO, NO_2 concentration must be kept as low as possible.¹² The amount of NO_2 delivered to the patient depends on the concentration of NO_2 in the NO- N_2 cylinder, the square of the concentration of NO, the concentration of O_2 , and the contact time between O_2 and NO. Currently, nitric oxide cylinders are not medical grade and are not standardized particularly with respect to the presence of NO_2 in the gas mixtures itself; hence, monitoring of the NO_2 level is required to prevent toxic administration, even though the contact time between NO and O_2 is very short.

It has been shown that NO_2 in the inspiratory gas can be reduced by using soda lime or soda lime dye.¹⁵ However, Pickett *et al.*¹⁷ showed that soda lime with either potassium permanganate, kenazol yellow, or ethyl violet as indicator cannot be recommended for use as a nitrogen dioxide scavenger during administration of inhaled nitric oxide. Moreover, NO_2 absorption is not selective because NO is also partially absorbed.¹⁸ Consequently, the use of soda lime as a NO_2 scavenger is still controversial.

In the classical injection system, the discrepancy between the anticipated (21.5 sec) and the measured (6.0 sec) contact time of NO with O_2 , was due to the mixing (convection and diffusion) of the fresh gas with the gas present in the circuit. This mixing phenomenon could also explain why the complete elimination time of NO from the circuit is approximately one minute. It is therefore surprising that Channick *et al.*¹³ observed no NO_2 production with a prolonged contact time. We also disagree with Wessel *et al.*¹⁴ that the classical injection system minimizes the exposure of NO and O_2 . However, our results are in agreement with Stenqvist *et al.*¹⁵ and Wessel *et al.*¹⁴ who measured significant NO_2 production.

With the new injection system, the contact time was equal to the inspiratory time which causes a reduction in NO_2 production. Moreover, the direct injection of NO into the inspiratory line by the NO injector solves many problems encountered in the classical method of NO administration.

Mechanical ventilators use gas flow to activate certain pneumatic mechanisms (for example the 7200AE ventilator regulator consumption is 1 to 3.6 L · min⁻¹). Consequently, the introduction of NO into the air inlet will increase operational costs and contribute to unnecessary pollution levels.

There is no specific NO/ N_2 mixer available. The standard air/ O_2 mixers most often in use are not accurate, despite the conclusions of Channick *et al.*¹³ and Wessel *et al.*¹⁴ Adjustment of precise NO concentrations is more

fficult with these mixers, than with the new injection stem.

As the NO/N₂ mixture is introduced into the air inlet of the ventilator, there is a risk of administering an anoxic gas to the patient. If an FiO₂ of 0.21 is chosen on the ventilator, then the gases present in the inspiratory line will be exclusively N₂ mixed with a few ppm of NO. The new injection system cannot give an anoxic gas mixture although the injection process will reduce the oxygen concentration. However, with both injection systems a oxygen analyser with alarms should be added in the inspiratory line in order to readjust correctly the O₂ concentration.

Finally, the effect of NO and NO₂ on different ventilator components in the classical injection system may lead to premature oxidation and could fail during a patient's treatment. We question the conclusion by Channick *et al.*¹³ and Wessel *et al.*¹⁴ that inhaled NO can be reliably delivered through a ventilator. No specific long-term studies were done on the oxidation process, although Wessel *et al.*¹⁴ indicated no problems were seen with intermittent operation, over a period of 20 months. Further studies could be performed to assess the oxidation phenomenon in ventilator components.

We conclude that the new injection system considerably reduces the concentration of inhaled NO₂ compared with the classical injection method.

References

- 1 Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002–12.
- 2 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373–6.
- 3 Searle NR, Sahab P. Endothelial vasomotor regulation in health and disease. *Can J Anaesth* 1992; 39: 838–57.
- 4 Welch G, Loscalzo J. Nitric oxide and the cardiovascular system. *J Card Surg* 1994; 9: 361–71.
- 5 Sprague RS, Thiemermann C, Vane JR. Endogenous endothelium-derived relaxing factor opposes hypoxic pulmonary vasoconstriction and supports blood flow to hypoxic alveoli in anesthetized rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 8711–5.
- 6 MacLean MR, McCulloch KM, McGrath JC. Influences of the endothelium and hypoxia on α_1 - and α_2 -adrenoceptor-mediated responses in the rabbit isolated pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 155–61.
- 7 Koizumi T, Gupta R, Newman JH. Inhibition of EDRF results in marked vasoconstriction of upstream pulmonary vessels during exercise in sheep. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: A226.
- 8 Harrison DG, Bates JN. The nitrovasodilators. New ideas about old drugs. *Circulation* 1993; 87: 1461–7.
- 9 Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ Res* 1989; 65: 1–21.
- 10 Bohn H, Beyerle R, Martorana PA, Schönafinger K. CAS 936, a novel sydnonimine with direct vasodilating and nitric oxide-donating properties: effects on isolated blood vessels. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 18: 522–7.
- 11 NIOSH recommendations for occupational safety and health standards 1988. Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, 1988; 37: S–7.
- 12 Foubert L, Fleming B, Latimer R, *et al.* Safety guidelines for use of nitric oxide (Letter). *Lancet* 1992; 339: 1615–6.
- 13 Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, Moser KM. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *Chest* 1994; 105: 1842–7.
- 14 Wessel DL, Adatia I, Thompson JE, Hickey PR. Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide in patients with pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 1994; 22: 930–8.
- 15 Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S. Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37: 687–91.
- 16 Rossaint R, Falke KJ, López F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399–405.
- 17 Pickett JA, Moors AH, Latimer RD, Mahmood N, Ghosh S, Oduro A. The role of soda lime during administration of inhaled nitric oxide. *Br J Anaesth* 1994; 72: 683–5.
- 18 Body S, Russel R, Harlan E, *et al.* Sodalime depletes nitric oxide in a circle system. 16th Annual Meeting of the Society of Cardiovascular Anaesthesiologists, Montreal, Canada, 1994; 272.

3.0 Effets des agents réducteurs et de la température sur la conversion des nitrites (NO_2^-) et nitrates (NO_3^-) en monoxyde d'azote et détection du NO par chimiluminescence.

Pour cette facette technique de mesure des dérivés nitrés par chimiluminescence, le Docteur Éric Troncy a collaboré avec le Docteur Fan Yang sur l'établissement du protocole expérimental, la mise au point de la technique de mesure par chimiluminescence, particulièrement sur les prélèvements d'origine biologique (plasma de Chien et de Porc). Là encore sa participation fut précieuse pour l'analyse des résultats et leur interprétation ainsi que pour l'écriture du manuscrit.

Effects of reducing reagents and temperature on conversion of nitrite and nitrate to nitric oxide and detection of NO by chemiluminescence

FAN YANG, ERIC TRONCY, MARTIN FRANÇEUR, BERNARD VINET,¹ PATRICK VINAY,²
GUY CZAİKA, and GILBERT BLAISE*

To measure the concentration of nitrites and nitrates by chemiluminescence, we examined the efficiency of five reducing agents [V(III), Mo(VI) + Fe(II), NaI, Ti(III), and Cr(III)] to reduce nitrite (NO_2^-) and (or) nitrate (NO_3^-) to nitric oxide (NO). The effect of each reducing agent on the conversion of different amounts of NO_2^- and (or) NO_3^- (100–500 pmol, representing concentrations of 0.4 to 2 μmolar) to NO was determined at 20 °C for NO_2^- and at 80 °C for NO_3^- . The effect of temperature from 20 to 90 °C on the conversion of a fixed amount of NO_2^- or NO_3^- (400 pmol or 1.6 μmolar) to NO was also determined. These five reducing agents are similarly efficient for the conversion of NO_2^- to NO at 20 °C. V(III) and Mo(VI) + Fe(II) can completely reduce NO_3^- to NO at 80 °C. NaI and Cr(III) were unable to convert NO_3^- to NO. Increased temperature facilitated the conversion of NO_3^- to NO, rather than that of NO_2^- to NO. We evaluated the recovery of NO_2^- and NO_3^- from plasmas of pig and of dog. Recovery from plasma of both animals was reproducible and near quantitative.

INDEXING TERMS: endothelium-derived relaxing factor • nitric oxide synthase • free radical • vasodilation • inflammation • thrombosis • immunology • neurotransmission

Nitric oxide (NO) is a free radical that reacts rapidly with several molecules in vitro or in vivo to form mainly nitrite

(NO_2^-) and nitrate (NO_3^-). Interest in NO, NO_2^- , and NO_3^- measurements has increased exponentially with the discovery that NO or a chemically related compound plays a major role in vasodilation, inflammation, thrombosis, immunology, and neurotransmission [1]. Measurements of NO_2^- and NO_3^- are also important in clinical chemistry as markers of nitric oxide synthase activity [2].

Measurement of NO concentration in biological systems is a challenging analytical problem [3, 4]. The chemiluminescence detector-based method for trace NO_2^- and (or) NO_3^- in aqueous samples was first reported by Cox [5] and was later widely applied [6–8]. This earliest and most commonly applied method is based on the conversion of NO_2^- to NO at room temperature by an acetic acid–sodium iodide (NaI) mixture. Ammonium molybdate [Mo(VI)] with ferrous ammonium sulfate [Fe(II)] in hot, 50% concentrated sulfuric acid was used for the reduction of both NO_2^- and NO_3^- to NO. NO_3^- was then determined as the difference of results obtained by the two methods. Vanadium (II) [V(II)] was mentioned as a possible reducing agent in the initial work by Cox [5], who reported that it reduces NO_3^- to NO. Later work by Braman and Hendrix [9] indicated that it is V(III), not V(II), that reduces NO_3^- to NO. Stronger reducing agents such as chromium (II) [Cr(II)] and titanium (III) [Ti(III)] could also reduce NO_3^- to NO [10, 11]. However, a systematic evaluation of different reducing agents and temperature conditions for the conversion of NO_2^- and NO_3^- to NO has not been performed. We compared the efficiency of V(III), Mo(VI) + Fe(II), NaI, Ti(III), and Cr(III) at different temperatures (20, 30, . . . 90 °C) for the conversion of NO_2^- and (or) NO_3^- to NO. We also evaluated the recovery of NO_2^- and NO_3^- from plasmas of pig and of dog.

Laboratory of Anesthesia, Departments of Anesthesia, ¹ Biochemistry, and Medicine, Hôpital Notre-Dame, Université de Montréal, 1560 Sherbrooke St. East, Montréal, QC, Canada H2L 4M1.

*Author for correspondence. Fax 514-896-4754; e-mail blaiseg@ere.montreal.ca.

Received August 8, 1996; revised November 21, 1996; accepted November 1, 1996.

Materials and Methods

The NO concentration in samples was detected by chemiluminescence with a Sievers 270B NO analyzer (Sievers Instruments, Boulder, CO). The detector is based on the reaction of NO with ozone (O_3) to give nitrogen dioxide in an excited state (NO_2^*) plus molecular oxygen. The excited state of NO_2^* decays to give a weak infrared chemiluminescence above 600 nm. A microreaction purge vessel coupled with a condenser and heating jackets permitted introduction of the sample directly into the reduction solution via a gas-tight syringe (Hamilton, Reno, NV). The condenser jacket temperature was controlled by a continuous flow of cold water while the temperature of the heating jacket was controlled by a continuous flow of warm water regulated by a Haake constant-temperature circulating bath Model D1-L (Fisher Scientific, Montréal, QC, Canada). Nitrogen, at a rate of 30 mL/min, was used as the carrier gas of NO to the NO analyzer. The flow into the reaction chamber of the NO analyzer could be adjusted with a needle valve placed between the filter (Nupro Co., Willoughby, OH) and the NO analyzer. A MacLab data acquisition system (ADInstruments Pty, Castle Hill, NSW, Australia) was used to collect and report the data as area under the curve response from baseline to baseline [9] (Fig. 1). We did not detect any NO_2^- or NO_3^- in the blanks used in this study.

REAGENTS

NO gas and nitrogen were purchased from Air Liquide (Canada), Montréal, QC, Canada. Vanadium trichloride, and sodium nitrite and nitrate were purchased from Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI). Chromium trichloride, titanium trichloride, ferrous ammonium sulfate, ammonium molybdate, sodium iodide, and other reagents were purchased from Fisher Scientific. All were reagent-grade quality and used without further purification. High-purity distilled water was used in the preparation of all solutions.

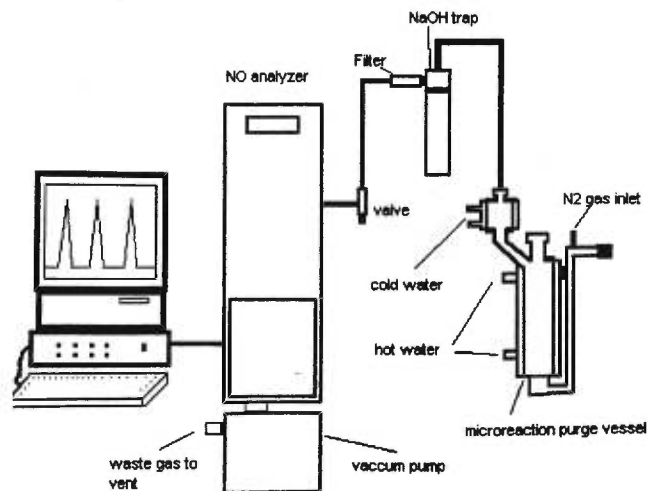


Fig. 1. Schematic of the analysis system.

RECOVERY FROM AQUEOUS SOLUTION

V(III), Mo(VI) + Fe(II), NaI, Ti(III), and Cr(II) have been reported as reducing agents for the conversion of NO_2^- and (or) NO_3^- to NO [5, 6, 8-13]. Except for Cr(II), for which we substituted Cr(III) with its three valences, all of these reducing agents were prepared as reported. Cr(III) was prepared in the same conditions as the other two reducing agents with three valences. Samples of inorganic NO_2^- ($NaNO_2$) or NO_3^- ($NaNO_3$) in 250 μ L of water (100, 200, ... 500 pmol) were injected into the microreaction purge vessel containing 5 mL of reducing agent solution, and the quantity of produced NO was measured after conversion by each reducing agent at 20 °C for NO_2^- and at 80 °C for NO_3^- . The effect of temperature on the conversion of 400 pmol of NO_2^- and (or) NO_3^- (in a volume of 250 μ L) to NO with each reducing agent was determined by changing the temperature scale from 20, 30, ... to 90 °C. The chemiluminescence analyzer was calibrated by injecting known amounts of NO gas (100, 200, ... 500 pmol) through the microreaction purge vessel heated at different temperatures in the absence of reducing agent solution. Data were collected as area under the curve response from baseline to baseline and divided by the mean standard response of NO gas for each concentration. From this we obtained a recovery factor (R) expressed in percentage. Serial measurements can be performed for each NO_2^- or NO_3^- concentration without changing the reducing agent solution in the microreaction purge vessel, since the volume of added samples is very small compared with the volume of the reducing agent solution.

RECOVERY FROM PLASMA

We added known amounts (100, 200, ... 500 pmol) of inorganic NO_2^- or NO_3^- in 0.1 mL of pig and dog plasma and then measured baseline amounts of NO_2^- and (or) NO_3^- to evaluate their recovery. Excessive foaming in the microreaction purge vessel caused by plasma proteins interfered with the reduction process. Therefore, all determinations in plasma samples were performed after deproteinization. Plasmas were diluted 10-fold with distilled water and deproteinized by addition of 1/20th volume of zinc sulfate to a final concentration of 15 g/L. After centrifugation at 1000g for 15 min, 0.1 mL of supernatant was applied to the microreaction purge vessel containing NaI solution at 30 °C for the conversion of NO_2^- to NO, or V(III) solution at 80 °C for the conversion of $NO_3^- + NO_2^-$ to NO. Samples of NO_2^- or NO_3^- added in plasma were compared with those prepared in distilled water in the same condition. This method only detects NO_2^- and NO_3^- that can readily pass into the gas phase to react with the O_3 in the microreaction purge vessel. Thus, any of the NO formed in vivo that would react with thiol groups in low-molecular-mass compounds is not detected here.

TATISTICAL ANALYSIS

Unless otherwise stated, all data are expressed as the mean \pm SE of R. Global mean indicates the mean of all values of R calculated for each of the five agents with all concentrations of inorganic NO_2^- or NO_3^- used. The statistical analyses were done with the SAS statistical analysis program. The significance level was set at 0.05. The analysis of variance (GLM procedure) was used to compare values of global means (P_1) for the five reducing agents. The analysis was repeated for each amount of samples used (100–500 pmol). The post hoc analysis between the five reducing agents was realized by using the Student–Newman–Keuls (SNK) tests. The effect of temperature and agents on R values was analyzed by using the two-way analysis of variance (P_2). The SNK post hoc analysis was used to compare R values for each agent at different temperatures and R values for different agents at the same temperature. The optimal reduction temperature(s) was (were) determined as the temperature(s) with the highest R value significantly different from the other R values. Separate paired *t*-tests were used for dog and pig plasma when the recovery of NO_2^- was compared with that of NO_3^- (P_3).

Results

EFFECT OF DIFFERENT REDUCING AGENTS ON CONVERSION OF NO_2^- TO NO AT 20 °C

Analysis of variance indicated a difference on the global mean of the five agents ($P_1 = 0.0001$). The post hoc analysis distinguished two groups: One, comprising Mo(VI) + Fe(II) and Ti(III), had higher recovery rates than the second, comprising V(III), NaI, and Cr(III). The same two groups were identified for each amount (100–500 pmol) of nitrite and nitrate. However, the difference between both groups was not statistically significant when the global mean values for the five reducing agents were compared. This analysis is summarized in Table 1.

EFFECT OF TEMPERATURE ON CONVERSION OF 400 PMOL OF NO_2^- TO NO

Temperature had no effect on the detection of NO gas by hemiluminescence (data not shown; $P_1 = 0.63$). Recovery of NO from NO_2^- ($P_2 = 0.01$) by the five reducing agents

was affected by temperature (Fig. 2). For NaI, the lowest R value (89.1%) was obtained at 20 °C (SNK $P < 0.05$) and no significant difference was found between the other temperature values. For other agents, the optimal reduction temperature was Mo(VI) + Fe(II) 50–60 °C, V(III) 60–80 °C, Cr(III) 20–70 °C, and Ti(III) 20–60 °C. The comparison between agents showed that the R values with NaI and Mo(VI) + Fe(II) were higher than the R values of the three other agents at 50–60 °C (SNK $P < 0.05$).

EFFECT OF DIFFERENT REDUCING AGENTS ON CONVERSION OF NO_3^- TO NO AT 80 °C

The recovery of NO from different amounts of NO_3^- (100–500 pmol) was $< 1.7\%$ when using NaI and Cr(III) as reducing agents. Often, no conversion was detected. The global mean of the R value for Ti(III) was $82.3\% \pm 1.8\%$, whereas those for V(III) and Mo(VI) + Fe(II) were respectively $105.8\% \pm 1.6\%$ and $101.1\% \pm 2.8\%$. The R values obtained for each amount of NO_3^- are summarized in Table 2.

EFFECT OF TEMPERATURE ON CONVERSION OF 400 PMOL OF NO_3^- TO NO

Temperature affected the recovery of NO from NO_3^- by V(III), Mo(VI) + Fe(II), and Ti(III) ($P_2 = 0.0001$; Fig. 3). The optimal reduction temperature was 80–90 °C for V(III) and 70–90 °C for Mo(VI)+Fe(II) and Ti(III). Temperature did not affect the low recovery ($< 1.7\%$ at any temperature tested) of NO from NO_3^- by NaI or Cr(III).

RECOVERY FROM PLASMA

For pig plasma, the recovery of NO_2^- was $96.4\% \pm 1.9\%$ ($n = 20$) and the recovery of NO_3^- was $104.3\% \pm 4.9\%$ ($n = 20$) over the entire concentration range tested (100–500 pmol). There was no significant difference between the recovery of NO_2^- and NO_3^- ($P_3 = 0.21$). For dog plasma, the recovery of NO_2^- was $89.6\% \pm 2.0\%$ ($n = 20$) and the recovery of NO_3^- was $107.4\% \pm 2.4\%$ ($n = 20$) over the entire concentration range tested (100–500 pmol). The difference between the recovery of NO_2^- and NO_3^- was significant ($P_3 = 0.0008$).

Table 1. Effect of different reducing agents on conversion of NO_2^- to NO at 20 °C.

NO_2^- , pmol	V(III) (n = 5)	Mo(VI) + Fe(II) (n = 4)	NaI (n = 4)	Ti(III) (n = 5)	Cr(III) (n = 5)
100	92.3% \pm 1.9%	94.7% \pm 1.7%	89.2% \pm 1.2%	96.5% \pm 1.3%	86.2% \pm 1.6%
200	91.6% \pm 0.7%	94.8% \pm 0.7%	92.2% \pm 0.8%	94.4% \pm 0.7%	91.2% \pm 1.0%
300	92.9% \pm 1.2%	97.3% \pm 0.7%	93.4% \pm 0.9%	96.4% \pm 0.6%	93.1% \pm 1.1%
400	93.3% \pm 1.5%	98.2% \pm 0.6%	95.1% \pm 0.9%	97.5% \pm 0.7%	94.6% \pm 1.1%
500	93.9% \pm 1.8%	98.8% \pm 0.9%	97.1% \pm 0.8%	98.3% \pm 0.8%	95.5% \pm 1.0%
Global mean	92.8% \pm 0.6%	96.7% \pm 0.5%	93.4% \pm 0.5%	96.6% \pm 0.4%	93.5% \pm 0.6%

n = number of separate experiments (triplicate measurements of each sample).

Recoveries are expressed as relative percentages calculated from the area under the response curve from baseline to baseline of NO gas as 100.0% recovery (mean \pm SE).

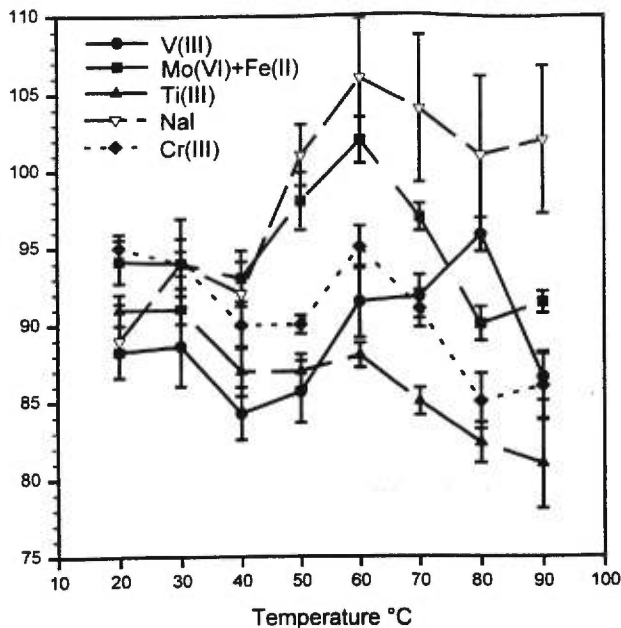


Fig. 2. Effect of temperature on conversion of 400 pmol of NO_2^- to NO by the five reducing agents.

Each point was determined from three separate experiments, and triplicate measurements were made for each sample.

Discussion

NO is a highly reactive messenger molecule that readily diffuses through plasmalemma to exert its biological activity in a variety of cells [5]. Several biological actions are attributed to NO via its activation of soluble guanylate cyclase, which catalyzes the transformation of GTP to cGMP. This transformation in turn activates a classical second messenger system that relays signals from the cell exterior to cell interior. Determination of increased NO formation is therefore of the utmost interest [3, 7, 9].

Determination of NO in itself is difficult because of its free-radical nature and short half-life. NO reacts rapidly with oxygen to form NO_2^- and with superoxide or with cytochrome c to form NO_3^- . In most cell culture systems [2], NO will be oxidized primarily to NO_2^- , whereas in animal models and human samples, NO is oxidized both to NO_2^- and NO_3^- . Nitrite and nitrate are both stable in frozen plasma for at least 1 year [2]. Therefore,

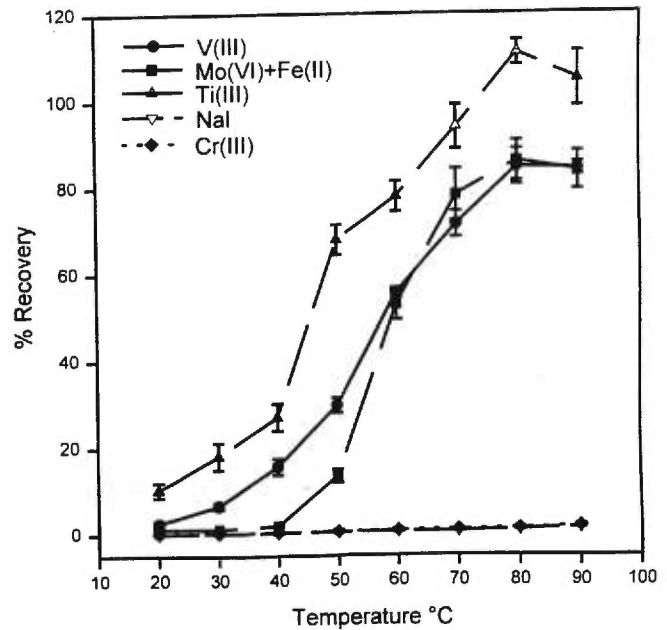


Fig. 3. Effect of temperature on conversion of 400 pmol of NO_3^- to NO by the five reducing agents.

Each point was determined from three separate experiments, and triplicate measurements were made for each sample.

determination of the stable end products of the NO radical is most often used to measure its concentration. NO_3^- is the major metabolite of NO in blood [2]; thus, determination of NO_2^- alone as a marker for NO concentration is meaningless, even if some previous studies had reported NO_2^- as the major byproduct of NO in blood [14]. The availability of a quantitative assay for both NO_2^- and NO_3^- can facilitate further elucidation of some of the physiological, pathophysiological, pharmacological, and therapeutic roles of NO.

Compared with other analytical methods [2-4] (e.g., spectrophotometry, electron paramagnetic resonance, gas or liquid chromatography, mass spectrometry), chemiluminescence is highly sensitive, selective, and accurate for NO_2^- and (or) NO_3^- , especially at the low concentrations in complex matrices found in water, food, and biological fluids. The key point in this procedure is to choose the

Table 2. Effect of different reducing agents on conversion of NO_3^- to NO at 80 °C.

NO_3^- , pmol	V(III) (n = 4)	Mo(VI) + Fe(II) (n = 3)	Ti(III) (n = 3)	NaI (n = 3)	Cr(III) (n = 3)
100	88.6% ± 3.0%	73.3% ± 3.1%	77.4% ± 3.5%	ND	ND
200	94.4% ± 2.6%	92.2% ± 5.5%	75.7% ± 4.5%	ND	ND
300	101.9% ± 2.7%	101.5% ± 5.4%	76.1% ± 5.6%	ND	ND
400	109.2% ± 1.5%	106.7% ± 5.7%	84.1% ± 1.3%	0.8% ± 0.1%	1.0% ± 0.2%
500	114.5% ± 0.6%	106.5% ± 4.2%	88.5% ± 3.0%	1.5% ± 0.3%	1.7% ± 0.3%
Global mean	105.8% ± 1.6%	101.1% ± 2.8%	82.3% ± 1.8%	1.5% ± 0.2%	1.6% ± 0.3%

n = number of separate experiments (triplicate measurements of each sample).

Recoveries expressed as percentage based on the area under the response curve from baseline to baseline of NO gas as 100.0% recovery (mean ± SE).

ND = not detectable.

appropriate reducing agent/temperature combination to selectively and completely reduce NO_2^- or NO_3^- to NO.

Several reducing agents have been tested for the reduction of NO_2^- and (or) NO_3^- to NO, such as NaI for the conversion of NO_2^- to NO, and V(III), Mo(VI) + Fe(II), Ti(III), and Cr(III) for the conversion of NO_3^- to NO [5, 9–13]. NO_2^- can be reduced to NO by using most reducing agents at room temperature, whereas conversion of NO_3^- to NO requires both a strong reducing agent and high temperature. V(III) and Ti(III) with three valences can reduce most of NO_3^- to NO at high temperature. We compared the efficiency of Cr(III), also with three valences, with V(III) and Ti(III) for the conversion of NO_2^- or NO_3^- to NO.

Our work revealed that the five reducing agents have a similar efficiency for the conversion of NO_2^- to NO at 20 °C, with a slight advantage for Mo(VI) + Fe(II) and Ti(III) over the other three agents. The recovery of NO from NO_2^- was almost complete, compared with the known amount of NO gas standard [lower R value: 86.2% \pm 1.6% for Cr(III) for the recovery of 100 pmol of NO_2^-].

V(III) and Mo(VI)+Fe(II) were equally efficient in converting NO_3^- to NO at 80 °C, and recovery of NO was nearly complete. However, recovery with Ti(III) was lower. NaI and Cr(III) were unable to reduce NO_3^- to NO, as only trace amounts of NO were recovered from NO_3^- regardless of the amount of NO_3^- and the temperature used. NaI and Cr(III) can thus be considered selective for reducing NO_2^- to NO. To our knowledge, this is the first report to show that Cr(III) can selectively reduce NO_2^- to NO. Enzymatic reduction of NO_3^- by using an immobilized *Escherichia coli* nitrate reductase column [15] converts ~30% of NO_3^- to NO_2^- . Another assay based on the coupled oxidation of NADPH during the enzymatic conversion of NO_3^- to NO_2^- by *Aspergillus* nitrate reductase only yields ~64% of serum NO_3^- to NO_2^- and is unsatisfactory for NO_3^- analysis in serum samples. Furthermore, though many reports claim a possible recovery of 100%, commercial nitrate reductases are rather expensive [16]. Powerful chemical reducing agents such as V(III), Mo(VI) + Fe(II), and to a lesser degree Ti(III) are more efficient than nitrate reductases for converting NO_3^- to NO_2^- in biological samples.

The temperature affected the conversion of both NO_2^- and NO_3^- to NO, as the reduction process is facilitated and more rapid at higher temperatures. This is particularly true for the conversion of NO_3^- to NO. However, increasing temperature had several technical drawbacks on the conversion of NO_2^- and NO_3^- to NO. The first is that the measurement of NO by chemiluminescence is influenced by humidity [3, 4]. As temperature increased, the heat evaporated more water, which quenched NO_2^* produced by the O_3 reaction. The second problem encountered is that the reducing solution has a tendency to move from the microreaction purge vessel to the condenser and even to the NO analyzer itself at high temperatures. We therefore propose that 60 °C would be the

really appropriate temperature for converting NO_2^- to NO by these five reducing agents. In the case of NaI, the most efficient NO_2^- reducing agent at any temperature, increasing the temperature had the undesirable effect of increasing the variability of the results (larger SE) and lowering the reproducibility, because of the above-mentioned reasons. The same situation was observed for the conversion of NO_3^- to NO. It would thus be very useful to find and select a reducing agent that can reduce NO_3^- to NO at low temperatures.

It has been suggested that strong reducing agents, such as V(III), can be used at different temperatures to achieve different goals: at low temperatures for the conversion of NO_2^- to NO, and at high temperatures for the conversion of $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ to NO. NO_3^- would then be determined by the difference between analysis of the same sample by both assays. Fig. 3 shows that V(III), Mo(VI) + Fe(II), and Ti(III) can also reduce NO_3^- to NO at low temperature, albeit at a low degree. Use of only two different temperatures cycling for a strong reducing agent to selectively reduce NO_2^- and (or) NO_3^- to NO can be a cause of overestimated NO_2^- and underestimated NO_3^- measurements.

Our results indicate that the most accurate procedure is to use NaI or Cr(III) as a reducing agent to selectively convert NO_2^- to NO at low temperatures and then use a strong reducing agent to convert all $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ to NO at 80 °C or 90 °C.

Proteins contained in most biological samples can cause excessive foaming in the microreaction purge vessel and interfere with the reduction process. Deproteinization is therefore essential for the analysis of such samples. Investigating the recovery of both NO_2^- and NO_3^- in biological samples with particular attention given to the reproducibility of the assay and the occurrence of artifacts is important. In this study, recovery of NO_2^- and NO_3^- in deproteinized plasma was 93.0% \pm 1.6% and 105.9% \pm 2.7% respectively. Although the recoveries of NO_2^- and NO_3^- were similar and complete for the pig plasma, we discovered a small but significant difference in the case of the dog plasma. The residual protein environment in the dog plasma seemed to interfere more with NO_2^- than with NO_3^- . Though part of the NO formed in vivo may react with thiol groups in low-molecular-mass compounds, this method does not detect these low-molecular-mass nitroso compounds, as NO must be in the gas state to react with the O_3 in the reaction chamber.

Compared with the same amount of NO gas, V(III), Mo(VI) + Fe(II), NaI, Ti(III), and Cr(III) are similarly efficient reducing agents for the conversion of NO_2^- to NO at 20 °C. V(III) and Mo(VI) + Fe(II) can also completely reduce NO_3^- to NO at high temperatures. However, Cr(III) and NaI were unable to convert NO_3^- to NO. Cr(III) and NaI can specifically reduce NO_2^- to NO. We recommend the use of NaI or Cr(III) at room temperature to selectively and completely reduce NO_2^- and the use of V(III) or Mo(VI) + Fe(II) at 80–90 °C to reduce $\text{NO}_2^- +$

NO_3^- to NO. Recovery of both NO_2^- and NO_3^- in experimental animal plasma was reproducible and near quantitative, albeit to a lesser degree in the case of the dog asma. These results also highlight the need for a relatively large-scale study with human subjects to establish proper baseline measurements for clinical assays of asma nitrite and nitrate concentrations.

We estimate that a properly organized clinical laboratory could process ~30 samples/h for NO_2 measurements and ~15 samples/h for the measurement of NO_3 concentrations.

We are grateful to Julie Paré for her technical assistance and Olivier Niquette from ATS Scientific Inc. for the NO_x analyzer support. This work was funded by the Medical Research Council of Canada, and the Nitric Oxide Research Foundation of Quebec.

References

- Culotta E, Koshland DE Jr. The molecule of the year: NO news is good news. *Science* 1992;258:1862-5.
- Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PL. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41:892-6.
- Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993;7:349-60.
- Kiechle FL, Malinski T. Nitric oxide. *Biochemistry, pathophysiology, and detection. Am J Clin Pathol* 1993;100:567-75.
- Cox RD. Determination of nitrate and nitrite at the parts per billion level by chemiluminescence. *Anal Chem* 1980;5:332-5.
- Rowland IR, Granli T, Bøckman BC, Key PE, Massey RC. Endogenous N-nitrosation in man assessed by measurement of apparent total N-nitroso compounds in faeces. *Carcinogenesis* 1991;12: 1395-401.
- Sen NP, Baddoo PA, Seaman SW. Rapid and sensitive determination of nitrite in foods and biological materials by flow injection or high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *J Chromatogr* 1994;673:77-84.
- Hirata K-I, Kuroda R, Sakoda T, Katayama M, Inoue N, Suematsu M, et al. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase activity by protein kinase C. *Hypertension* 1995;25:180-5.
- Braman R, Hendrix SA. Nanogram nitrite and nitrate determination in environmental and biological materials by vanadium(III) reduction with chemiluminescence detection. *Anal Chem* 1989;61: 2715-8.
- Lingane JJ, Pecsok RL. Volumetric determination of nitrate ion. *Anal Chem* 1949;21:622-5.
- Cresser MC. Nitrate determination by reduction to ammonia and gas-phase ultraviolet absorption spectrometry. *Analyst* 1977; 102:99-103.
- Ellis CM, Vogel AI. Studies on hypovanous salts as analytical reagents. *Analyst* 1956;81:693-703.
- Hassan SSM, Zaki MTM. Gasometric microdetermination of nitrates by reduction with vanadium(II). *Anal Chem* 1976;282:138.
- Horton RA, Ceppi ED, Knowles RG, Tithenadge MA. Inhibition of hepatic gluconeogenesis by nitric oxide: a comparison with endotoxic shock. *Biochem J* 1994;299:735-9.
- Gilliam MB, Sherman MP, Griscavage JM, Ignarro LJ. A spectrophotometric assay for nitrate using NADPH oxidation by *Aspergillus* nitrate reductase. *Anal Biochem* 1993;212:359-65.
- Senn DR, Carr PW. Determination of nitrate ion at the part per billion level in environmental samples with a continuous flow immobilized enzyme reaction. *Anal Chem* 1976;48:954-8.

Chapitre 3

DISCUSSION

4.0 Mise à jour.

Par rapport à l'information présentée dans les articles précédents, il est opportun de signaler quelques modifications, de les discuter et de tirer de nouvelles conclusions.

4.1 Aspects légaux.

Le 22 novembre 1996, la FDA Américaine a proposé que les systèmes d'administration de NO et les moniteurs à NO et/ou NO₂ soient classés comme matériel de Classe II pour des raisons de régulations (référence #14 dans l'article de revue). En même temps, un certain nombre de risques et de contrôles spécifiques ont été proposés (Tableau I). En ce qui concerne la proposition d'homologation par la FDA (article de revue, page 9), la compagnie Ohmeda Inc. qui soutenait le projet auprès de l'organisation administrative a retiré sa demande. La raison est liée aux résultats moins enthousiastes que prévus obtenus par l'utilisation néonatale du NO inhalé^(11, 12) et surtout à l'absence d'études spécifiques prouvant hors de tout doute l'innocuité du NO inhalé. Ce manque d'information aurait entraîné un refus d'accréditation par la FDA et la compagnie Ohmeda Inc. a préféré repousser sa demande plutôt que de se retrouver dans une situation délicate (Ashley PALMER, Directeur Recherche & Développement, Ohmeda Inc., communication personnelle, mai 1998). Toutefois, à ce jour, le système d'administration I-NOvent[®] de la compagnie Ohmeda Inc. est le seul à être approuvé par la FDA à titre d'achat par les hôpitaux possédant un numéro valide d'Investigation pour un Nouveau Médicament pour le NO inhalé, les autres injecteurs étant, pour l'instant, limités au sol Européen et reconnus dans divers pays.

Au Canada, des commissions sont sur pied pour évaluer la position officielle de Santé Canada sur la question de l'utilisation thérapeutique du NO inhalé. En France, l'Autorisation Temporaire d'Utilisation médicale est sur la sellette au gré des résultats obtenus lors des études multicentriques. Au Royaume-Uni le développement de la thérapie par NO inhalé a poussé à l'émission de recommandations pour son utilisation dans les unités de soins intensifs adultes.⁽¹³⁾

Tableau I : Recommandations de la *Food and Drug Administration* (FDA) Américaine en date du 22 novembre 1996.

Risques	<p>Perte de l'administration de NO et fausse concentration de NO</p> <p>Effets secondaires sur la fonction respiratoire</p> <p>Administration excessive de NO₂</p> <p>Libération catastrophique de NO</p> <p>Adulteration du NO ou du gaz respiratoire</p> <p>Défaut électrique</p> <p>Effet néfaste sur tout autre appareil électronique par émission électromagnétique</p>
Rôles spécifiques	<p>Analyse possible de la concentration de NO, NO₂ et O₂ (avec alarmes potentielles)</p> <p>Monitoring de la pression du cylindre de NO ; limiter la quantité totale de NO sujette à une libération catastrophique</p> <p>Système de réserve (<i>back-up</i>) d'administration du NO</p> <p>Autonomie électrique de fonctionnement (<i>battery back-up</i>)</p> <p>Spécifications et tests pour le profil de concentration en NO et NO₂ lors d'un cycle respiratoire ; pour la précision, la reproductibilité et la fiabilité de l'administration de NO</p> <p>Spécifications et tests pour la production de NO₂; instructions pour la purge (<i>flushing</i>) de NO₂ hors du système</p> <p>Connecteurs spécifiques pour le gaz NO / N₂</p> <p>Standards : documentation sur l'utilisation des logiciels et du matériel, sur la compatibilité électromagnétique, sur la résistance du matériel à l'environnement et à l'usage</p> <p>Sécurité électrique</p> <p>Identification des respirateurs et autres systèmes respiratoires gazeux compatibles</p>

4.2 Systèmes d'administration du monoxyde d'azote inhalé.

4.2.1 Résumé

Lors de ventilation artificielle, le NO gazeux peut être administré en aval du ventilateur dans la branche inspiratoire du circuit ventilatoire, ou bien être mélangé avec l'oxygène (O_2) et N_2 en amont du système ventilatoire. À cause de sa simplicité et de son faible coût, l'injection dans la branche inspiratoire est la plus utilisée au Canada et en Europe du Sud, alors qu'aux États-Unis d'Amérique et en Europe du Nord, le système d'administration en amont a été le plus populaire.⁽¹⁴⁾ Chaque système a ses propres avantages et inconvénients mais l'évolution technique fait que l'on se rapproche maintenant d'un système idéal permettant une administration constante et sûre de NO ainsi qu'une production minimale de NO_2 . Pour y parvenir, une injection proportionnelle de NO dans le débit gazeux inspiratoire, un mélange adéquat de NO et O_2 / N_2 et un temps de contact minimum entre NO et O_2 pour limiter la formation naturelle de NO_2 , toxique puissant, sont nécessaires. Deux phénomènes de turbulence peuvent empêcher d'atteindre ce résultat, à savoir la non homogénéité de NO radiale et longitudinale.⁽¹⁵⁾ La première est liée à la position axiale de l'injection de NO par rapport au circuit inspiratoire et à l'emploi de tubes non appropriés.^(16, 17) La seconde apparaît quand le rythme d'injection de NO n'est pas proportionnel au débit inspiratoire du circuit principal et est maximale avec une injection continue de NO dans la branche inspiratoire lors de débit ventilatoire phasique (effet bolus ; cf article de revue, page 12). Trois solutions sont envisageables :⁽¹⁸⁾

- ❖ Mélanger une proportion constante de NO, O_2 et N_2 en amont du respirateur et connecter ce mélange à l'entrée d'air du respirateur (Figure 1, page 11 de l'article de revue). Avec ce système, le débit dans la branche inspiratoire peut être continu ou phasique, constant ou variable et il n'est pas supposé affecter la concentration de NO.^(14, 19, 20) Toutefois, les inconvénients sont l'incapacité à ajuster précisément le mélange pré-respirateur, des coûts d'utilisation et de main d'œuvre élevés, la possibilité d'un temps de contact augmenté entre NO et O_2 pour la formation de NO_2 toxique et la détérioration possible des composantes internes du respirateur par des gaz corrosifs en relation

avec l'humidité^(14, 21) et l'utilisation de matériel non conçu initialement pour l'administration de NO.^(15, 22)

- ❖ Le NO est injecté dans la branche inspiratoire à un débit constant avec quelques limitations : avec une injection continue pour les respirateurs pédiatriques ou les respirateurs oscillatoires à haute fréquence fonctionnant à débit constant et continu (Figure 2-A, page 12 de l'article de revue) ; avec une injection phasique, séquentielle (uniquement durant l'inspiration) pour les respirateurs adultes fonctionnant à débit constant et phasique avec une ventilation à volume-contrôlé (VC), un débit d'onde carrée et un patient profondément endormi ou endormi / paralysé (Figure 2-B et 2-C, page 12 de l'article de revue). Bien que simple et non coûteuse, cette technique présente le défaut majeur d'engendrer beaucoup de turbulences. L'effet bolus peut ainsi conduire à l'inhalation de gaz hypoxique et une production accrue de NO₂. La variabilité des concentrations gazeuses impose un monitoring constant des concentrations de NO, NO₂ et O₂.^(15, 19, 20, 23)
- ❖ Le NO est injecté dans la branche inspiratoire à un débit adapté, proportionnel au débit principal pour les respirateurs adultes fonctionnant à débit variable (forme d'onde décélérante, crescendo ou sinusale) ou constant lors de ventilation à pression-contrôlée (PC) ou VC ou lors de variation dans l'effort inspiratoire du patient. L'injection de NO dans la branche inspiratoire est titrée à l'aide d'un système de réponse ultra rapide qui maintient un ratio constant entre le débit de NO et les gaz ventilatoires.⁽¹⁴⁾ Il est composé d'un pneumotachomètre (Pulmonox[®]) ou un thermoanémomètre (I-NOvent[®]) connecté sur la ligne inspiratoire et mesurant le débit du circuit principal (ou recevant directement cette information du respirateur partenaire pour le NOdomo[®]) qui envoie un signal électrique vers un débitmètre de masse contrôlant l'injection de NO sur une base de quelques millisecondes car le débit inspiratoire varie pendant et entre les cycles respiratoires. C'est le système le plus performant à ce jour.^(13, 24, 25) Les inconvénients sont liés au coût d'achat élevé et à l'utilisation restreinte à certains respirateurs (pour le NOdomo[®] et le Servo 300[®]).

Il faut indiquer que l'injecteur Servo 300* peut également être classé dans le système pré-respirateur.^(20, 26) Il réalise en fait un mélange interne de NO, O₂ et air pour donner la concentration désirée de NO et d'O₂ à l'aide de la technologie de microprocesseurs utilisée par les respirateurs actuels pour fixer la fraction inspirée d'O₂ (FiO₂). Son évaluation dans les conditions *in vitro*⁽²⁷⁾ et sur modèle animal⁽²⁸⁾ fut très bonne.

Le site d'injection de NO sur la branche inspiratoire doit être situé suffisamment loin du patient (au moins à 60 cm de la pièce en Y) afin de faciliter une bonne homogénéité du mélange⁽¹⁶⁾ alors que l'injection au niveau de la pièce en Y ou directement dans la trachée a été proscrite en raison de la variabilité des concentrations gazeuses obtenues,^(19, 20) des difficultés de monitoring, des turbulences et de la formation de produits toxiques.⁽¹⁴⁾ il a été recommandé de le situer juste après l'humidificateur, s'il y en a un, afin d'éviter la formation de gaz corrosifs.⁽¹⁴⁾

4.2.2 Lettre à l'éditeur.

Imanaka et collaborateurs⁽²⁰⁾ ont comparé cinq différents systèmes d'injection du NO (mélange en amont du ventilateur ou sur la branche inspiratoire, soit à 90 cm, soit au niveau de la pièce en Y, avec une administration constante, continue ou phasique) à l'aide d'appareils développés par leurs soins, dans diverses conditions de ventilation (pression, volume, mode ventilatoire) sur la fiabilité des concentrations obtenues. Estimant leurs conditions constantes, ils se sont contentés d'une comparaison sur une seule respiration. Comme attendue, seule la technique de mélange pré-ventilateur a maintenu une administration de NO constante quelque soit le pattern ventilatoire.

Par l'écriture de cette lettre à l'éditeur, nous tenions à souligner la qualité du travail d'Imanaka et coll.⁽²⁰⁾ mais surtout à modérer les conclusions apportées par les auteurs en rapport à la méthodologie et à la technologie utilisées. Baser l'étude sur un seul relevé de valeurs sous prétexte d'une reproductibilité extrême (et non prouvée) des résultats constitue un biais à notre sens et reste fortement lié à l'objectivité des auteurs (de par leur choix dans la présentation des dits « résultats »). Par ailleurs, l'utilisation d'appareils « maison » ne permet pas de porter ensuite un jugement définitif sur tel ou tel système. Ainsi, les problè-

mes rapportés dans notre étude précédente⁽¹⁶⁾ avec l'injection pré-respirateur restent fortement dépendants de l'appareil utilisé. Nous étions conscients que d'autres utilisateurs tels que ceux du *Massachusetts General Hospital* pouvaient très bien employer un système pré-respirateur bien plus performant que le nôtre et pour lequel nos conclusions ne correspondaient pas. Les conclusions d'Imanaka et coll.⁽²⁰⁾ auraient donc dues être plus prudentes avant de sacrifier le système d'injection séquentielle dans la branche inspiratoire au profit du système pré-respirateur (qu'ils ont toujours favorisé),^(19, 26) surtout en tenant compte de l'évolution des appareils d'injection commerciaux majoritairement voués à une injection séquentielle et adaptée.

Finalement, le même groupe a récemment fini par rejoindre pleinement notre opinion⁽²⁶⁾ après évaluation de l'injecteur I-NOvent[®],⁽²⁹⁾ ce que nous (et d'autres⁽²⁵⁾) avions déjà réalisée lors de la conception de notre propre système basé sur le même principe et nommé INOJECTEUR[®].

Anesthesiology
1997; 87:1591
© © 1997 American Society of Anesthesiologists, Inc.
Lippincott-Raven Publishers

In Reply:— We agree completely with Dr. Woelck that the small amount of carbon monoxide formation observed after Baralyme rehydration was probably a result of incomplete mixing of the added water with the absorbent granules. In the technical range of pouring, dribbling, sprinkling, and misting, we dribbled the water. Presumably sprinkling or misting, with better mixing, would have more completely rehydrated the absorbent. Similarly, use of excess water would likely provide greater rehydration.

Before "taking the plunge," however, we suggest evaluating the effect of such measures on the scavenging characteristics of carbon dioxide absorbents.

Evan D. Kharasch, M.D., Ph.D.
Professor, Anesthesiology and Medicinal
Chemistry (Adjunct)
Department of Anesthesiology
University of Washington
Box 356540
Seattle, Washington 98195
kharasch@u.washington.edu

(Accepted for publication July 29, 1997.)

Anesthesiology
1997; 87:1591-2
© 1997 American Society of Anesthesiologists, Inc.
Lippincott-Raven Publishers

Inhaled Nitric Oxide Delivery Systems

To the Editor:— Imanaka *et al.*¹ informed us about the inaccuracies of nitric oxide (NO) delivery systems during adult mechanical ventilation. Although we found the study informative, we have some concerns regarding the methodology and the manner in which the authors interpret their results.

Although the authors argue for the analysis of only "a single breath . . ." we have major concerns with such results. In the cited conditions, no statistical analysis is possible, hence no inference can be made. Moreover, explanations of the changes (table 2) in fractions of inspired NO (NO concentration) observed by varying tidal volume (V_T) or inspiratory time (T_I) would have been appreciated. The authors claim that during pressure support ventilation into inspiratory phase, injection into inspiratory limb (fig. 5, panel ii) is not acceptable. However no obvious difference is observed between this and NO concentration-premixing systems with synchronized intermittent mandatory ventilation, and it is unclear how the authors explain the sudden appearance of a high peak of NO concentration in the *ii* mode with a mandatory breath?

Continuous and premixed administrations of NO were used at the very early stages of inhaled NO therapy. Continuous injection is simple, but it results in high peak NO concentration,^{2,3} often not recorded by slow-response analysers,⁴ high production of nitrogen dioxide (NO_2), and reduction in FI_{O_2} . It is characterized by a bolus effect⁵ and would require an appropriate mixing chamber or continuous bypass flow to avoid it. This method is cur-

rently not recommended, except with continuous-flow time-cycled pressure-limited or high-frequency mechanical ventilators.

Premixing NO with nitrogen (N_2) or air (supplemental diluting cylinder) also presents major drawbacks. Blenders, valves, and other ventilator components were not specifically designed to withstand NO. Even if this method has been used over a period of 20 months without apparent corrosive effects,⁶ long-term safety has not been verified.⁷ Most blenders also have a bleed flow delivered in the room, and the NO concentration changes when the FI_{O_2} setting on the ventilator is changed. The validity of the used nomograms to adjust NO dilution is suspect,⁴ and we observed difficulty achieving a precise NO concentration. At high FI_{O_2} , high levels of NO_2 can be produced.⁸

Using their cyclic NO delivery system, the authors have shown a high variability in NO concentrations. This was particularly evident in the pressure-controlled (PCV) mode where peak inspiratory flow rate is high and decelerating. This may be a problem of the efficacy of their system, and the authors should be prudent before ruling out cyclic NO injection in the inspiratory limb. It appears that this method also is the choice of many companies developing NO delivery systems (Servo 300[®] with NO option, Dräger Nodomo[®], Messer-Griesheim Pulmonox[®], L'Air Liquide Opti-NO[®], Ohmeda I-NOvent[®]). No study has evaluated whether physiologically significant effects occur if NO concentration fluctuates around a mean therapeutic value during inspiration. We think that the latter method can be used to deliver inhaled NO

and efficiently and that such systems must meet the needs of different ventilatory modes and peak inspiratory flow rates.

Eric Troncy, D.V.M., M.Sc.

Ph.D. Student

Martin Francoeur, R.R.T.

Gilbert Blaise, M.D.

Anesthesiologist, Associate Professor, and Director
Anesthesia Laboratory

Department of Anesthesiology

Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

Pavillon Notre-Dame

1560 Sherbrooke Street East

Montréal H2L 4M1

Canada

References

1. Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, et al, Hurford WE: Inaccuracies of nitric oxide delivery systems in adult mechanical ventilation. *ANESTHESIOLOGY* 1997; 86:676-683
2. Skimming JW, Cassin S, Blanch PB: Nitric oxide administration using constant-flow ventilation. *Chest* 1995; 108:1065-72
3. Sydow M, Bristow F, Zinslerling J, Allen SJ: Variation of nitric oxide concentration during inspiration. *Crit Care Med* 1997; 25:365-71
4. Puybasset L, Rouby JJ, Mourgeon E, Cluzel P, Souhil Z, Law-Koune J-D, Stewart T, Devilliers C, Lu Q, Roche S, Kalfon P, Vicaut E, Viars P: Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:318-28
5. Fernandez R, Artigas A, Blanch L: Ventilatory factors affecting inhaled nitric oxide concentrations during continuous-flow administration. *J Crit Care* 1996; 11:138-43
6. Wessel DL, Adatia I, Thompson JE, Hickey PR: Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide in patients with pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 1994; 22:930-8
7. Body SC, Hartigan PM, Sherman SK, Formanek V, Hurford WE: Nitric oxide: Delivery, measurement, and clinical application. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9:748-63
8. Dubé L, Francoeur M, Troncy E, Carrier R, Blaise G: Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Can J Anaesth* 1995; 42:922-7

(Accepted for publication August 6, 1997.)

Anesthesiology

37:1592-3

© American Society of Anesthesiologists, Inc.

Lippincott-Raven Publishers

Reply:—We wish to thank Troncy *et al.* for their interest in our work and welcome the opportunity to make the following clarifications.

As we stated in our published paper,¹ our lung model produced negligible breath-to-breath variation. With no variability, inferential analysis becomes meaningless. In our opinion, such analysis would be misleading and add nothing to our results.

Figure 2 of our paper shows that, with the exception of the premixing system, the inspired nitric oxide concentration was affected by changes in tidal volume, inspiratory time, and inspiratory flow pattern. The methods that injected NO only during the inspiratory phase performed well with constant flow ventilation, were not acceptable with pressure-controlled ventilation. This is explained by the fact that the NO injection was at a constant flow, whereas the flow from the ventilator was decelerating. As the delivered NO concentration increased as the flow from the ventilator decreased. With the continuous injection methods, spikes in NO concentration were greater with a shorter inspiratory time, which allowed more NO to flow into the inspiratory circuit during the expiratory phase, which can be best appreciated in figure 2 in our article. The spikes in NO concentration were also greater with a higher tidal volume resulting from the higher inspiratory flow and thus less time for mixing.

We do not agree with the interpretation of Troncy *et al.* of Figure 5 of our paper. We believe that it is obvious that the delivered NO patterns are different between the premixing system and the inspiratory injection system during pressure support ventilation. When tidal volume varies breath-by-breath such as can

occur with synchronized intermittent mandatory ventilation, NO accumulates in the inspiratory limb of the circuit with the inspiratory injection system. The smaller the tidal volume and the longer the inspiratory time, the more NO accumulates in the inspiratory circuit. Thus, when a mandatory breath follows a spontaneous breath, a large spike of NO can be delivered.

Troncy *et al.* suggest that premixing systems were only used in the early stages of inhaled NO therapy. We believe that these systems are still commonly used. We use this system regularly in our practice, and it is the system used in the phase 2 and phase 3 clinical trials of inhaled NO for the acute respiratory distress syndrome in the United States. We have used the premixing system on about 150 patients and for thousands of hours over the past 5 yr without incident. We have noted no deterioration of ventilator or blender components. Although the NO concentration changes when the ventilator FiO₂ setting is changed with the premixing system, the desired NO concentration can be maintained by adjusting the external blender setting. With the inspiratory injection system favored by Troncy *et al.*, the NO concentration is affected by changes in the inspiratory flow setting of the ventilator and changes in the inspiratory flow pattern. We have successfully used nomograms to adjust the NO dilution with our premixing system for years.² Regardless of the system used or the validity of nomograms, the delivered NO dose should be measured. As our data show, the analyzed dose can be deceptive when the NO concentration varies during the inspiratory phase and when a slow response analyzer is used. It should be noted that most commercially available electrochemical and chemiluminescence analyzers have a response time too slow to detect

changes in NO concentration that may occur during the inspiratory phase.

The F_{iO_2} is limited by all NO delivery systems. With the premixing system, the F_{iO_2} setting on the ventilator cannot be set at 1.0 because NO enters the system through the high pressure air inlet. With the inspiratory injection system, the ventilator can be set at an F_{iO_2} of 1.0, but the oxygen concentration delivered to the patient will be less than 100%. For example, an inspiratory injection system that delivers a NO concentration of 20 ppm from a 400 ppm source gas cylinder must reduce the F_{iO_2} by 5%. Thus, even though the ventilator is set at an F_{iO_2} of 1.0, the patient only receives an F_{iO_2} of 0.95. It should also be noted that the inspiratory injection system will increase the tidal volume delivered from the ventilator by 5% under these conditions.

Like Troncy *et al.*, we have been concerned by the generation of NO_2 in premixing systems. However, published data from our laboratory show that this is not problematic at the NO doses currently used (usually ≤ 20 ppm).³ This is consistent with data by Dubé *et al.*,⁴ who have shown similar and acceptable NO_2 concentrations (≤ 1 ppm) for either the premixing system or inspiratory injection system.

It is important to note that the inspiratory injection system favored by Troncy *et al.* differs from systems that are being developed by industry. One of the systems, the Ohmeda INOvent Delivery System (Ohmeda, Madison, WI) is now available in the United States. This is an inspiratory injection system that is much more sophisticated than that described by us¹ or Dubé *et al.*⁴ The INOvent Delivery System measures the inspiratory flow from the ventilator and precisely injects NO into the inspiratory limb proportional to the ventilator flow to achieve the desired NO concentration. In that way, the delivered NO concentration is constant, regardless of changes in the flow pattern from the ventilator. Preliminary testing in our laboratory shows this system to be precise regardless of ventilatory pattern. It bears emphasis, however, that this system differs from previously described inspiratory injection systems because those systems (unlike the INOvent Delivery System) do not vary the injection of NO with changes in ventilatory pattern.

It is important that NO delivery systems provide a precise and predictable NO concentration to avoid complications resulting from

inaccurate dosing. The delivered NO dose should not change with changes in ventilatory pattern. Dose-response studies of inhaled NO can only be compared if they deliver a constant NO concentration. The only system that we evaluated that met these criteria was the premixing system. Inspiratory injection systems that vary the NO injection with changes in ventilatory pattern may be desirable, pending laboratory and clinical evaluation of such systems as they become commercially available.

Dean Hess, Ph.D., R.R.T.
Assistant Professor of Anaesthesia
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts
Assistant Director of Respiratory Care
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

Hideaki Imanaka, M.D.
Surgical Intensive Care Unit
National Cardiovascular Center
Osaka, Japan

References

1. Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, Steudel W, Hurford WE: Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation. *ANESTHESIOLOGY* 1997; 86:876-88
2. Hess D, Bigatello L, Kacmarek RM, Ritz R, Head CA, Hurford WE: Use of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Respir Care* 1996; 41:424-46
3. Nishimura M, Hess D, Kacmarek RM, Ritz R, Hurford WE: Nitrogen dioxide production during mechanical ventilation with nitric oxide in adults. Effects of ventilator internal volume, air versus nitrogen dilution, minute ventilation, and inspired oxygen concentration. *ANESTHESIOLOGY* 1995; 82:1246-54
4. Dubé L, Francoeur M, Troncy E, Carrier R, Blaise G: Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Can J Anaesth* 1995; 42:922-7

(Accepted for publication August 6, 1997.)

Anesthesiology
1997; 87:1593-4
© 1997 American Society of Anesthesiologists, Inc.
Lippincott-Raven Publishers

An Algorithm for Quantifying Blood Pressure Lability

To the Editor:—Reich *et al.*¹ have developed and preliminarily validated an algorithm for quantifying blood pressure lability. The problem is clinically significant, and the authors' use of receiver-operating characteristic curves to finetune their system for optimal results seems meritorious.

However, the authors' system does not appear to be an expert system by the conventional use of the term. Consequently, the keyword classification of the article appears incorrect. Further, the first

sentence of the conclusion from the abstract, which reads, "One potential application of expert systems to anesthesia practice is a smart alarm to detect blood pressure lability," is a nonsequitur because of this.

An expert system is a computer-based system, typically having certain characteristics: (1) the system performs a difficult task typically done by humans, where experts are provably better than amateurs, (2) the style of programming emphasizes symbolic

4.3 Moniteurs de NO / NO₂.

Le NO est un gaz potentiellement toxique. Chez l'Homme, le plateau de concentration pour obtenir un effet maximal sur la circulation pulmonaire et l'oxygénation artérielle dépasse rarement les 10 parties-par-million (ppm).^(14, 23, 30) Dans 90% des patients adultes, l'effet maximum est observé avec des concentrations inspirées variant entre 3 et 5 ppm. Des concentrations de NO supérieures à 10 ppm avec 100% d'O₂ peuvent aboutir à des niveaux toxiques de NO₂.⁽³¹⁾ Puisque des pics de concentration en NO bien supérieurs à 10 ppm peuvent apparaître avec certains systèmes d'injection tels que l'administration continue et constante dans la voie inspiratoire, il est conseillé d'utiliser les systèmes favorisant une concentration de NO stable comme l'administration séquentielle et adaptée ou le système pré-respirateur (avec les réserves précédemment mentionnées). Malgré le faible risque d'overdose possible avec ces systèmes, une augmentation brutale et accidentelle des concentrations inspirées de NO et NO₂ doit être détectée, justifiant l'emploi de moniteurs de façon judicieuse et adaptée.

4.3.1 Systèmes à réponse lente.

Les systèmes avec un temps de réponse élevé (> 10 secondes) ne décèlent pas les fluctuations ventilatoires de la concentration de NO.^(20, 22, 31) Les moniteurs électrochimiques et chimiluminescents de première génération tel que le Tecan AG modèle CLD 700 AL* (Eco Physics, Dürten, Suisse) sont des exemples de moniteurs à réponse lente. Ils peuvent être utilisés lorsque la concentration de NO inspiratoire est stable. Lors d'administration continue, ils ne permettent pas de suivre les fluctuations de concentration aussi bien dans la branche inspiratoire que dans la trachée et donc ne doivent pas être utilisés avec cette visée. Les moniteurs électrochimiques sont moins chers que les appareils à chimiluminescence et avec une calibration régulière sont de bonne précision (de l'ordre du ppm).⁽³²⁾

4.3.2 Systèmes à réponse rapide.

Une estimation précise du mélange de NO dans les différentes parties du circuit ventilatoire requiert un appareil à chimiluminescence à temps de réponse court.^(14, 20) Seule la seconde génération des moniteurs chimiluminescents, spécifiquement conçue pour l'usa-

ge médical, ont un temps de réponse suffisamment rapide pour mesurer les concentrations inspirées et expirées trachéales de NO.⁽³¹⁾ Il est nécessaire de différencier le temps de réponse de l'appareil du temps de transit du gaz du site de prélèvement jusqu'à la chambre de mesure. Ainsi, les analyseurs NO_x 4 000* (Sérès, Aix-en-Provence, France), 280 NO-A* (Sievers Instrument, Boulder, Colorado – É-U-A), et 7 020* (ANTEK instruments, Houston, Texas – É-U-A) ont des temps de réponse respectifs de 735, 275 et 250 millisecondes mais selon le débit de prélèvement, le temps de transit va varier entre 1 et 3 secondes. Un suivi des concentrations trachéales de NO est possible sur l'écran des moniteurs à chimiluminescence les plus récents (NO_x 4 000 MEDICAL EVA*, Sérès) permettant une mesure continue des variations de la concentration trachéale de NO comme index de la « fonction pulmonaire » lors de l'évolution du SDRA.⁽³³⁾ En effet, la différence entre les concentrations inspirée et expirée de NO divisée par la concentration inspirée est inversement proportionnelle à l'espace mort alvéolaire et directement proportionnelle au volume de parenchyme pulmonaire normalement ventilé lors de SDRA. Ceci est dû au fait que seules les régions perfusées du parenchyme pulmonaire ventilé participent à la capture pulmonaire de NO.⁽³³⁾ Il s'en suit que les variations de concentration trachéale de NO peuvent servir d'index à l'étendue des dommages alvéolaires aussi bien qu'à la sévérité de l'hypoperfusion pulmonaire.

4.4 Trappeurs à NO / NO₂ et sécurité de l'environnement.

4.4.1 Production de NO₂ dans un système d'administration de NO.

L'oxydation de NO en présence d'O₂ (Équation [1], page 9 de l'article de revue) a été analysée dans des chambres fermées et a été trouvée dépendante des concentrations de NO (de son carré plus exactement), d'O₂ et du temps de contact entre NO et O₂ selon l'équation :

$$- d[\text{NO}] / dt = k_3 \times [\text{NO}]^2 \times [\text{O}_2]$$

Récemment,⁽³⁴⁾ il a été démontré que ces conditions n'étaient pas équivalentes à celles rencontrées avec un système d'administration pré-respirateur et que cette équation ne pou-

vait décrire exactement le processus d'oxydation de NO en NO₂ dans un tel système d'administration. Les mesures ont indiqué que trois phases pouvaient être distinguées dans le processus d'oxydation de NO :⁽⁴⁾

- ❖ Une petite contamination en NO₂ au niveau de la source de NO gazeux est seulement dépendante de la concentration en NO et peut donc être décrite de la façon suivante.

$$k_A \times [\text{NO}] \text{ avec } k_A = 5,12 \times 10^3$$

- ❖ Une hausse initiale et temporaire de production de NO₂ a été décelée, directement proportionnelle à la concentration en O₂ et au carré de la concentration en NO, et sous ces conditions, indépendante du temps.

$$k_B \times [\text{NO}]^2 \times [\text{O}_2] \text{ avec } k_B = 1,41 \times 10^6$$

- ❖ Enfin, une hausse linéaire et dépendante du temps de la concentration de NO₂ est en accord avec l'équation précédemment décrite décrivant l'oxydation de NO en présence d'O₂.

$$k_C \times t \times [\text{NO}]^2 \times [\text{O}_2] \text{ avec } k_C = 0,86 \times 10^6$$

Dès lors l'équation décrivant la concentration de NO₂ dans le système d'administration est formulée de la façon suivante :

$$[\text{NO}_2] = k_A \times [\text{NO}] + k_B [\text{NO}]^2 \times [\text{O}_2] + k_C \times t \times [\text{NO}]^2 \times [\text{O}_2]$$

Les recommandations de sécurité sur l'utilisation du NO étaient basées sur l'évaluation précédente de la cinétique de réaction gazeuse dans un système fermé qui avait uniquement relevé la formation temps-dépendante de NO₂. Or il apparaît maintenant qu'il faut surveiller la contamination possible de la source de NO et surtout cette production initiale de NO₂ qui semble se former immédiatement après le mélange de NO et O₂. Considérant par la suite la fiabilité des nouveaux systèmes d'administration et la possibilité de filtrer le NO₂ produit, il semble convenable de proposer initialement une surveillance de la

production de NO_2 au niveau de la source de NO puis lors de la mise en place du système d'administration. Par la suite, un suivi régulier (mais pas forcément continu) des concentrations de NO et NO_2 pourrait être suffisant afin d'assurer au patient l'administration la plus sûre possible dans les limites de nos connaissances actuelles. Ces conclusions supportent l'écriture de la lettre à l'éditeur présentée par la suite.

4.4.2 *Lettre à l'éditeur.*

Weimann et coll.⁽³⁵⁾ ont testé trois préparations commerciales de chaux sodées pour leur efficacité à absorber NO_2 et NO lors d'inhalation simulée de NO . Pour explorer si les différences obtenues entre les trois préparations sur l'absorption de NO_2 (respectivement égale à 15, 24 et 34%) pouvaient être dues à un contenu différent en hydroxyde de potassium (KOH), les auteurs ont répété leurs expériences avec des chaux sodées contenant plus de KOH (respectivement 3,0 et 7,3%) et ont obtenu des absorptions de 47 et 46%.

La présentation de cette lettre à l'éditeur vise à souligner les différences d'interprétation possibles sur un point précis de l'administration du NO , à savoir les trappeurs à NO / NO_2 . Outre les raisons énoncées plus haut nous tenions aussi à proposer quelques rectificatifs quant à leur hypothèse de travail et leur présentation et analyse des résultats précédemment obtenus par d'autres chercheurs.

CORRESPONDENCE

53

Nitric oxide (NO)/nitrogen dioxide (NO₂) scavengers

Editor,—After reading with interest the study by Weimann and colleagues¹ on a subject that we have recently reviewed,² we would like to make the following comments.

We were surprised by the hypothesis of improved NO₂ absorption through increasing the potassium hydroxide (KOH) content of soda lime, because Pickett and colleagues³ found a marked reduction in NO₂ concentration (80.6% or 100%, depending on the electrochemical monitor used) and to a lesser extent in NO concentration (13.3% or 8.2%) using ethyl violet Intersorb™ soda lime without KOH. Moreover, Ishibe and colleagues⁴ found similar absorption properties for two types of soda lime (100% for NO₂, from 11.9% to 97.1% for NO with Soda Sorb™, and from 20.6% to 90.1% for NO with Wako lime-A™, depending on the respective concentrations of NO and NO₂ passing through the absorber). The absorbers had the same indicator agent (ethyl violet) but with one major variation in chemical composition—the presence of 5% KOH in Soda Sorb™. It was stated that NO₂ is mainly absorbed by chemical neutralization with ethyl violet soda lime, but NO is absorbed with equimolecular amounts of NO₂ only where they coexist.^{1,4} For this reason, it would have been interesting if the authors had presented the different rates of NO₂ production for the three concentrations of NO (20, 40, and 80 ppm) and fractions of inspired oxygen (0.25, 0.75, and 0.99) used, as well as the different levels of NO and NO₂ absorptions under these such conditions. This would explain the levels of NO absorption observed for Drägersorb 800™ (2%) and Sofnolime™ (3%): 2 ppm of NO₂/80 ppm of NO = 2.5% absorption for NO.

Moreover, the authors mentioned the concentration of NO (1000 ppm) in the gas cylinder but not that of NO₂. This is important because it was previously indicated⁵ that a cylinder of 993 ppm NO contained as much as 17 ppm of NO₂ (in our case, 900 ppm NO cylinders contain less than 5 ppm of NO₂). Weimann and colleagues reported a maximum concentration of 2 ppm NO₂ measured in the extreme conditions of testing.¹

Until now only two abstracts^{6,7} have reported partial absorption of NO₂ using ethyl violet soda lime, while other reports (reviewed in Francœur *et al.*⁸) indicated almost full absorption. The apparent discrepancy may be explained by technical reasons, as suggested by Weimann.¹ In particular, we noted a difference in the chemical composition of the soda lime preparations with a higher content of calcium (around 75%) and sodium (around 3%) hydroxides.^{3,5} Weimann and colleagues suggest a ceiling effect in NO₂ absorption with increased KOH content: there was no difference between Special-1 (3.0% KOH) and Special-2 (7.3% KOH) in NO₂ absorption (respectively, 47% and 46%). We think that this ceiling effect would reveal a lack of correlation between the content of KOH and the level of NO₂ absorption. From all these results, it would appear that the primary determinant of NO₂ absorption is the content of calcium hydroxide, and that KOH has only a limited role.

We also noted major mistakes in the references cited in the discussion.¹ First, Stenqvist and colleagues¹⁰ did not report a NO₂ absorption “by almost 80%”,¹ but between 87.5% and 100%. Second, we have reported above the exact levels of NO absorption found in the study by Ishibe and colleagues.⁴ Third, the paper by Pickett and colleagues,³ presented in Weimann’s discussion, is not a good reference. The one cited refers to a first series of experiment by Pickett and colleagues,¹¹ which was subsequently corrected with technical modifications.¹

As outlined by the authors,¹ other materials such as molecular sieve 5A™,¹² ABEK HgCONO-P3™,¹³ or charcoal¹⁴ have been found efficient for NO and NO₂ adsorption and useful for environmental protection. Moreover, Vaahs and colleagues¹⁵ showed that the noXon™ polymeric filter completely and selectively removes all NO₂ from the inspiratory gas. The advent of new, efficient and selective filters such as noXon™, added to the reliability in delivering precise and constant concentrations of the new NO delivery devices—such as I-NOvent™ (Ohmeda, Liberty Corner, New Jersey, USA), NOdomo™ (Dräger, Lübeck, Germany), NAMU™ (Messer-Griesheim/Nellcor Puritan Bennett Canada, Kirkland, Canada), Servo Ventilator 300™ with NO

option (Siemens-Elementa, Solna, Sweden), etc—raises questions over the need for continuous monitoring of inspired NO₂ concentrations. A regular check might be sufficient.

E TRONCY

M FRANCOEUR

G BLAISE

Department of Anaesthesia
Centre Hospitalier de l'Université de Montréal
Québec, Canada

1. Weimann J, Hagenah JU, Motsch J. Reduction in nitrogen dioxide concentration by soda lime preparations during simulated nitric oxide inhalation. *British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 641-4.
2. Francœur M, Troncy E, Blaise G. Inhaled nitric oxide: technical aspects of administration and monitoring. *Critical Care Medicine* (in press).
3. Pickett JA, Mahmood N, Latimer RD, Powroznik A, Ghosh S, Oduro A. Effective absorption of nitrogen dioxide with soda lime. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 74: 107-8.
4. Ishibe Y, Sato T, Hayashi T, Kato N, Hata T. Absorption of nitrogen dioxide and nitric oxide by soda lime. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 75: 330-3.
5. Ishibe Y, Sato T, Hayashi T, Kato N, Hata T. Effective absorption of nitrogen dioxide with soda lime. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 74: 107.
6. Tibballs J, Hochmann M, Carter B, Osborne A. An appraisal of techniques for administration of gaseous nitric oxide. *Anaesthesia and Intensive Care* 1993; 21: 844-7.
7. Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, Guimond J-G, Blair L, Charbonneau M, Blaise G. Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide? *Lancet* 1997; 350:111-12.
8. Motsch J, Bach A, Böhler H, Gagel K, Martin E. Reduction of nitric dioxide formation during nitric oxide inhalation [abstract]. *Anesthesiology* 1994; 81: A1268.
9. Foubert L, Mareels K, Latimer R, Herregods L, Rolly G. Evaluation of soda lime as a nitric oxide and nitrogen dioxide scavenger [abstract]. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 74(suppl II): 2(A3).
10. Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S. Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1993; 37: 687-91.
11. Pickett JA, Moors AH, Latimer RD, Mahmood N, Ghosh S, Oduro A. The role of soda lime during administration of inhaled nitric oxide. *British Journal of Anaesthesia* 1994; 72: 683-5.
12. Poulton BB, Foubert L, Klinowski J, Latimer RD, Knowles PR, Vuylsteke A. Extraction of nitric oxide and nitrogen dioxide from an oxygen carrier using molecular sieve 5A. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 534-6.
13. Squire S, Kightley R, Petros AJ. An effective method of scavenging nitric oxide. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 432-4.
14. Young JD, Rhodes A, Lamb FJ. Inhaled nitric oxide. *British Journal of Anaesthesia* 1997; 79:547.
15. Vaahs T, Schleicher A, Frank G, Sixl W, Germann P, Urak G, Krebs C, Leitner C, Röder G, Zimpfer M. noXon – the NO₂-filter material for a safe application of NO-gas and first results under clinical conditions. In: Moncada S, Stamler J, Gross S, *et al*, eds. *The biology of nitric oxide – part 5*. London: Portland Press, 1996: 318.

Editor,—Thank you for giving us the opportunity to comment. In their letter, Drs Troncy, Francœur, and Blaise question the need for continuous monitoring of inspired NO₂ concentrations during inhaled NO treatment and state that instead “a regular check” may be sufficient. We strongly disagree with this statement.

Nitric oxide inhalation treatment is not yet approved for clinical use and has still to be treated as an investigational drug. Therefore all possible measures should be undertaken to minimize harm to patients treated with this drug—as stated in the Declaration of Helsinki. This requirement has led to the development of safety

J U HAGENAH
 Drägerwerk AG
 Lübeck
 Germany 54

guidelines for the clinical use of inhaled NO that include the continuous measurement of NO and NO₂.^{1,2} This capability is also included in the standards proposed by the American Food and Drug Administration (FDA) for NO and NO₂ monitoring devices.³ Several studies^{4,5} showed that current NO delivery devices are not as accurate as suggested by Troncy and colleagues. This is important since the conversion rate of NO to NO₂ is determined by the square of the NO concentration, the O₂ concentration, and the residence time of NO with O₂,⁶ where the latter is a result of the chosen mechanical ventilator setting. The frequent changing of settings of these variables—essential during treatment of the critically ill patients who require NO treatment—and the possible inaccuracy of NO delivery may lead to rapid and unpredictable changes in NO₂ concentration, which should therefore be monitored continuously. Accordingly, all the NO delivery devices mentioned by Troncy are capable of continuous NO and NO₂ monitoring. Nevertheless, not all of these devices are available in or meet the medical safety regulations of all countries.

There is clear evidence that NO₂ inhalation may be toxic to the lung, even in the concentrations that may occur during clinical NO administration⁷ (for review see our original report⁸). Furthermore, Troncy and colleagues point out that NO cylinders may be contaminated by large amounts of NO₂—that is, 17 ppm NO₂ (Tibbals and colleagues⁹) or 12 ppm NO₂ (Stenqvist and colleagues¹⁰). Such contamination may be harmful if not recognized by inspired NO₂ monitoring.¹¹

Besides our report⁸ and the two abstracts cited by Dr Troncy, two other publications showed only partial absorption of NO₂ by soda lime^{10,12}. Stenqvist and colleagues¹⁰ used Q-Sorb™ which contains ethyl violet and stated that “the NO₂ concentration was reduced by about 75%”—which we referred to as “almost 80%”.⁸ Westfelt and colleagues¹² also reported NO₂ absorption of only 65–70% using the same soda lime preparation (Q-Sorb™). Only partial NO₂ absorption by soda lime and the possibility of new NO₂ formation in the inspiratory limb between the soda lime absorber and the Y-piece emphasize the need to monitor NO₂ at the inspiratory side of the Y-piece. Our data did not reveal any correlation between the NO₂ concentration and the NO extraction rate, as proposed by Ishibe and colleagues.¹³

The study by Stenqvist and colleagues¹⁰ has been cited correctly (see above). We would like to thank Dr Troncy for clarifying the actual values for NO absorption found by Ishibe and colleagues.¹³ The values cited from Pickett and colleagues are, in fact, derived from their later study,¹⁴ which we did not state in our paper.

Our data suggest that NO₂ absorption by soda lime may be correlated with the potassium hydroxide (KOH) content of the soda lime preparation: the higher the KOH content the more NO₂ is absorbed. The effect of KOH content on NO₂ absorption may already be maximal at 3.0%, which would explain the fact that Special-2 soda lime was not shown to absorb more than Special-1. We showed clear differences between the five studied soda lime preparations but there was no significant difference in their calcium hydroxide content. Therefore, our data do not support the conclusion by Dr Troncy that the content of calcium hydroxide is the primary determinant for NO₂ absorption by soda lime.

We note that Dr Troncy and colleagues agree with us that different technical approaches for examining a certain scientific question may lead to different results. In our original report⁸ we discussed in detail the technical differences that may be responsible for the different results of the studies of Pickett and colleagues,¹⁵ Ishibe and colleagues,¹³ Stenqvist and colleagues,¹⁰ and our own.⁸ In contrast to the studies by Pickett and colleagues¹⁵ and Ishibe and colleagues,¹³ our set up was specifically designed to mimic the clinical situation as closely as possible. Further investigations may be required to elucidate the exact mechanisms by which NO and NO₂ absorption by soda lime occurs and how it may be improved. However, current published reports agree that certain soda lime preparations can absorb NO₂ and therefore may be useful in reducing the risk of potentially harmful side effects and in increasing the safety of NO inhalation treatment.

Meanwhile, the use of inhaled nitric oxide therapy should carefully follow the recent recommendations of an expert panel, which conclude that “NO and NO₂ should be monitored continuously at the inspiratory side of the Y-piece ...”¹

J WEIMANN
 J MOTSCH
 Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
 Heidelberg
 Germany

- Cuthbertson BH, Dellinger P, Dyar OJ, Evans TE, Higenbottom T, Latimer R, Payen D, Stott SA, Webster NR, Young JD. UK guidelines for the use of inhaled nitric oxide therapy in adult ICUs. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 1212–18.
- Hess D, Bigatello L, Kacmarek RM, Ritz R, Head CA, Hurford WE. Use of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Respiratory Care* 1996; 41: 424–46.
- Body SC, Hartigan PM. Manufacture and measurement of nitrogen oxides. *Respiratory Care Clinics of North America* 1997; 3: 411–35.
- Imanaka H, Hess D, Kirmse M, Bigatello LM, Kacmarek RM, Steudel W, Hurford WE. Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation. *Anesthesiology* 1997; 86: 676–88.
- Mourgeon E, Gallart L, Umamaheswara Rao GS, Lu Q, Law-Koune JD, Puybasset L, Coriat P, Rouby JJ. Distribution of inhaled nitric oxide during sequential and continuous administration into the inspiratory limb of the ventilator. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 849–58.
- Nishimura M, Hess D, Kacmarek RM, Ritz R, Hurford WE. Nitrogen dioxide production during mechanical ventilation with nitric oxide in adults. Effects of ventilator internal volume, air versus nitrogen dilution, minute ventilation, and inspired oxygen fraction. *Anesthesiology* 1995; 82: 1246–54.
- Nishimura M, Hess D, Kacmarek RM, Ritz R, Hurford WE. Nitrogen dioxide production during mechanical ventilation with nitric oxide in adults. Effects of ventilator internal volume, air versus nitrogen dilution, minute ventilation, and inspired oxygen fraction. *Anesthesiology* 1995; 82: 1246–54.
- Weimann J, Hagenah JU, Motsch J. Reduction in nitrogen dioxide concentration by soda lime preparations during simulated nitric oxide inhalation. *British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 641–4.
- Tibbals J, Hochmann M, Carter B, Osborne A. An appraisal of techniques for administration of gaseous nitric oxide [comments]. *Anaesthesia and Intensive Care* 1993; 21: 844–7.
- Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S. Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1993; 37: 687–91.
- Dube L, Francoeur M, Troncy E, Carrier R, Blaise G. Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1995; 42: 922–7.
- Westfelt UN, Lundin S, Stenqvist O. Safety aspects of delivery and monitoring of nitric oxide during mechanical ventilation. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1996; 40: 302–10.
- Ishibe T, Sato T, Hayashi T, Kato N, Hata T. Absorption of nitrogen dioxide and nitric oxide by soda lime. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 75: 330–3.
- Pickett JA, Mahmood N, Latimer R, Powroznyk A, Ghosh S, Odoro A. Effective absorption of nitrogen dioxide with soda lime. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 74: 107–8.
- Pickett JA, Moors AH, Latimer RD, Mahmood N, Ghosh S, Odoro A. The role of soda lime during administration of inhaled nitric oxide [comments]. *British Journal of Anaesthesia* 1994; 72: 683–5.

Transposition of rotameter tubes

Editor,—Walmsley and Holloway are right to highlight the need for comprehensive checking.¹ Considering the Association of Anaesthetists' 1990 checklist² unsuitable for daily pre-use checks, COVERS³ was introduced in this hospital as a pre-use checklist broadly equivalent to the subsequently introduced 1997 Association revision.⁴ Also recognising the need for a formal schedule of comprehensive checking, COVERS is backed up by the performance of an extended checklist based on the 1990 recommendations which is carried out by anaesthetist and operating department assistant together before use, whenever a machine is returned from service or breakdown, and also midway between scheduled services.

Our audit⁵ confirmed the benefits of this routine. The combination is appropriate for the delivery of safe anaesthesia and the management of risk within the directorate.

4.4.3 Sécurité de l'environnement.

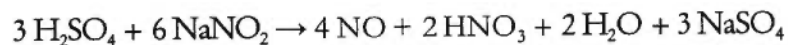
Telle que présentée dans l'article de revue (pages 18-19), il persiste toujours une polémique vis-à-vis de la nécessité d'un système d'élimination du NO et autres NO_x pouvant être relâchés dans l'environnement et auxquels le personnel soignant serait éventuellement exposé. Il avait déjà été rapporté⁽³⁶⁾ que les concentrations maximales de NO et NO₂ mesurées dans les chambres de 20 patients recevant du NO étaient respectivement de 100 et 30 parties-par-billion (ppb) alors que les mêmes mesures dans les rues de Londres étaient de 989 et 228 ppb. Les concentrations ambiantes (moyenne ± écart type) de NO dans les unités de soins intensifs d'un hôpital parisien étaient de 237 ± 147 ppb lors des périodes d'administration de NO inhalé et de 289 ± 147 ppb en absence d'utilisation du NO inhalé.⁽³⁷⁾ Les concentrations de NO et NO₂ à l'intérieur des bâtiments étaient dépendantes des concentrations à l'extérieur et principalement influencées par les conditions climatiques telles que la pression atmosphérique, le degré d'humidité et la vitesse du vent. L'administration thérapeutique de concentrations de NO inhalé inférieures à 5 ppm n'a pas modifié les concentrations ambiantes de NO et NO₂ qui furent encore une fois dépendantes des conditions extérieures.⁽³⁷⁾ Il apparaît ainsi que l'élimination du NO au sortir du système de ventilation n'est pas indispensable dans les unités de soins intensifs localisées dans des centres urbains avec un seuil de pollution atmosphérique significatif lorsque la concentration administrée ne dépasse pas 5 ppm. Toutefois, telles que signalées dans l'article de revue, d'autres conditions d'utilisation (lieux plus restreints, administration plus importante, etc.) vont faire en sorte qu'un système d'élimination sera nécessaire.

Finalement, d'autres données en provenance d'hôpitaux de Pittsburgh ont prouvé que l'air comprimé utilisé par les respirateurs était contaminé de façon occulte par du NO dont la concentration (0 à 1,4 ppm) varie avec les niveaux ambiants de NO.⁽³⁸⁾ Lors d'une contamination accidentelle, ce niveau de NO a atteint 6,5 ppm. Le même groupe a par la suite trouvé que les faibles concentrations de NO dans l'air comprimé utilisé dans l'hôpital améliorent l'oxygénation de patients ventilés et présentant des poumons sains.⁽³⁹⁾ Cette découverte inattendue peut avoir plusieurs conséquences. En premier lieu, vu que tous les hôpitaux n'utilisent pas l'air comprimé fabriqué à partir des gaz environnementaux mais aussi à partir de gaz artificiels non contaminés en NO, cela pourrait expliquer la variabilité

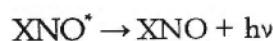
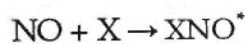
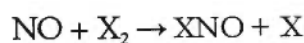
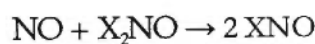
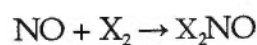
des résultats obtenus avec le NO inhalé selon les centres. En second lieu, cette contamination pourrait apporter un élément de réponse quant au phénomène des « non-répondeurs » au NO inhalé rencontré dans le SDRA, *i.e.* des patients atteints de SDRA et dépendants du respirateur qui présentent une faible (< 20%) amélioration de leur oxygénation lors d'administration de NO inhalé. Ces patients pourraient déjà bénéficier d'effets bénéfiques sub-maximaux résultant de l'inhalation occulte de NO à partir d'air comprimé contaminé.⁽³⁹⁾

4.5 Modifications mineures.

Pour finir, nous présentons une liste de points intéressants et non présentés dans les articles précédents pour une raison de place limitée ou de parution ultérieure à leur rédaction. Ainsi, les niveaux minimum de NO₂ détectables à l'odeur ont été rapportés de 1 à 3 ppm selon les personnes.⁽⁴⁰⁾ L'équation [2] présentée dans l'article de revue (page 10) était simplifiée et la réaction complète doit être vue comme présentée ci-dessous :⁽²¹⁾



Par ailleurs, nous mentionnons dans l'article de revue (page 18) les difficultés de monitoring concomitant du NO et des anesthésiques volatils. De plus, le NO interagit fortement avec les dérivés halogénés pour former d'autres espèces radicalaires et moléculaires.⁽²¹⁾ Les mécanismes de réaction peuvent être généralisés de la façon suivante :



Des réactions similaires ont aussi été décrites entre NO₂ et les composés halogénés. Comme NO et NO₂ sont tous deux des espèces radicalaires réactives, il n'est pas surpre-

nant de trouver une telle variété de réactions entre ces deux espèces et les halogénés, connus eux-mêmes pour être passablement réactifs. Dès lors, toutes les spéculations sont ouvertes quant aux produits formés si le NO est administré avec des composés halogénés tels que les anesthésiques volatils et leur utilisation ne doit pas être conseillée avant que des travaux subséquents n'aient prouvé leur innocuité.

Enfin, il a récemment été proposé un système Pipeline d'administration du NO inhalé prenant en compte l'aspect corrosif des gaz manipulés {le NO et le NO₂, ce dernier particulièrement en présence d'humidité (H₂O) avec la formation d'acides nitreux (HNO₂) et nitrique (HNO₃), sont fortement corrosifs pour les métaux et les plastiques⁽⁴¹⁾} ainsi que la spécificité nécessaire des connexions.⁽⁴²⁾ Par ailleurs, ces considérations ont été retenues et présentées dans la liste de recommandations anglaises d'utilisation du NO inhalé.⁽¹³⁾

4.6 Conclusions.

En 1998, le NO inhalé peut (et doit) être administré de telle façon qu'une concentration stable et prévisible se retrouve dans la branche inspiratoire.⁽⁴³⁾ Ceci peut être obtenu par une administration de NO en amont du respirateur ou directement au niveau de la partie proximale de la branche inspiratoire avec une injection séquentielle et adaptée. Toutefois, dans la première hypothèse, les effets indésirables de formation de produits toxiques et/ou corrosifs sont à surveiller et limitent les conditions d'utilisation. Bien que des concentrations de NO constantes soient obtenues avec les deux systèmes précédemment cités, des fluctuations de la concentration de NO sont observées au niveau de la trachée. Cette variation est liée à la capture pulmonaire du NO, est directement corrélée au volume pulmonaire normalement ventilé et est inversement proportionnelle à l'espace mort alvéolaire. Cette fluctuation peut donc être considérée comme un index du ratio d'incoordination ventilation / perfusion et peut être mesurée continuellement afin de suivre l'évolution du SDRA. Au contraire, l'injection continue de NO dans la branche inspiratoire conduit à des variations imprévisibles de la concentration de NO et doit être limitée à des conditions d'utilisation bien précises et de préférence sous contrôle par un appareil à chimiluminescence au temps de réponse court.⁽¹⁴⁾

Deuxième partie

**Utilisation expérimentale animale et clinique
humaine du monoxyde d'azote inhalé**

Chapitre 4

REVUE DE LITTÉRATURE

5.0 Applications cliniques, indications et toxicologie du monoxyde d'azote inhalé.

Ce deuxième article de revue propose un large tour d'horizon de l'utilisation expérimentale animale et clinique du NO inhalé. Il débute par une présentation sommaire des particularités biochimiques de ce radical libre pour ensuite détailler les mécanismes d'action du NO inhalé dans l'hypertension pulmonaire, l'hypoxémie, l'inflammation et l'œdème pulmonaire ainsi que ses effets extra pulmonaires. Ces points d'applications cliniques proviennent essentiellement d'un pool mirifique (auquel nous avons modestement contribué) d'études expérimentales réalisées *in vivo* sur l'animal et chez l'Homme. Par la suite, l'article analyse les indications diagnostiques et thérapeutiques du NO inhalé, principalement en rapport avec le SDRA, et les connaissances actuelles limitées sur la toxicité potentielle du NO inhalé.

Inhaled nitric oxide: clinical applications, indications, and toxicology

Eric Troncy DVM MSC,
Martin Francœur RRT,
Gilbert Blaise MD

Purpose: Although the analogy of nitric oxide (NO) to Endothelium-derived Relaxing Factor remains controversial, medical use of exogenous NO gas by inhalation has grown exponentially. This review presents the mechanisms of action of inhaled NO in pulmonary hypertension, hypoxaemia, inflammation and oedema, as well as its therapeutic and diagnostic indications with emphasis on acute respiratory distress syndrome (ARDS) and toxicology.

Source: Two medical databases (Current Contents, Medline) were searched for citations containing the above-mentioned key words to December 1996. Moreover, many presentations in congresses such as 4th International Meeting of Biology of Nitric Oxide, 52nd and 53rd Annual Meeting of Canadian Anaesthetists' Society or 10th Annual Meeting of European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists were used.

Principal findings: Inhaled NO is now recognized as an invaluable tool in neonatal and paediatric critical care, and for heart/lung surgery. Other clinical applications in adults, such as chronic obstructive pulmonary disease and ARDS, require a cautious approach. The inhaled NO therapy is fairly inexpensive, but it would seem that it is not indicated for everybody with regards to the paradigm of its efficiency and potential toxicity. The recent discovery of its anti-inflammatory and extrapulmonary effects open new horizons for future applications.

Conclusion: Clinical use of inhaled NO was mostly reported in case series, properly designed clinical trials must now be performed to establish its real therapeutic role. These trials would permit adequate selection of the cardiopulmonary disorders, and subsequently the patients that would maximally benefit from inhaled NO therapy.

Objectif : Même si la relation entre le monoxyde d'azote (NO) et l'EDRF (endothelium-derived relaxing factor) n'est pas établie de façon absolue, l'utilisation médicale du NO exogène à l'état gazeux a cru de façon exponentielle. Ce survol de la littérature rappelle les mécanismes d'action du NO inhalé dans l'hypertension pulmonaire, l'hypoxémie, l'inflammation et l'oedème et jette un regard sur ses indications diagnostiques et thérapeutiques principalement en rapport avec le syndrome de détresse respiratoire de l'adulte (SDRA) et la toxicologie du NO.

Sources : Deux bases de données (*Current Contents*, *Medline*) incluant décembre 1996, ont été consultées en faisant appel aux mots-clés mentionnés plus haut. En outre, on a révisé les travaux présentés à des congrès comme le 4th International Meeting of Biology of Nitrous Oxide, les 52^e et 53^e congrès annuels de *La Société canadienne des anesthésistes* et le 10^e congrès annuel de *l'Association européenne des anesthésiologistes cardiothoraciques*.

Principales constatations : L'inhalation de NO est maintenant reconnue comme faisant partie de l'arsenal thérapeutique néonatalogique, pédiatrique et chirurgical cardiopulmonaire. Chez les adultes, les autres indications comme la maladie pulmonaire obstructive chronique et le SDRA sont moins évidentes. L'inhalation thérapeutique de NO ne coûte pas cher mais ne constitue pas une panacée, compte tenu de son efficacité et de sa toxicité potentielle. La découverte récente de ses effets anti-inflammatoires et extrapulmonaires ouvre toutefois la porte à de nouvelles applications.

Conclusion : En clinique, l'inhalation de NO a surtout fait l'objet d'observations anecdotiques mais des essais cliniques validés doivent être menés pour établir sa valeur thérapeutique réelle. Ces essais devraient permettre d'établir ses indications cardiopulmonaires et ainsi procurer aux patients les avantages maximaux de la thérapie par inhalation au NO.

From the Laboratory of Anesthesia, Department of Anesthesia, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal - Pavillon Notre-Dame, 1560 East Sherbrooke Street, Montréal, Québec, Canada H2L 4M1.

Address correspondence to: Gilbert Blaise MD; Phone: 514-281-6000 ext 5397; Fax: 514-896-4754; E-mail: blaise@ere.umontreal.ca
Accepted for publication May 9, 1997.

Contents

Introduction
Biochemistry
Clinical applications of inhaled nitric oxide
<i>Pulmonary hypertension</i>
<i>Hypoxemia</i>
<i>Inflammation and pulmonary oedema</i>
<i>Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide</i>
<i>Cardiovascular effects</i>
<i>Platelet effects</i>
<i>Renal effects</i>
Therapeutic indications of inhaled nitric oxide
<i>Pediatric patients</i>
<i>Persistent pulmonary hypertension of the newborn</i>
<i>Congenital diaphragmatic hernia</i>
<i>Congenital heart disease</i>
<i>Heart/lung surgery</i>
<i>Primary pulmonary hypertension</i>
<i>Chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary fibrosis</i>
<i>Bronchospastic disease</i>
<i>Acute respiratory distress syndrome</i>
Diagnostic indications of nitric oxide
<i>Diagnosis of pulmonary hypertension reversibility</i>
<i>Before cardiac transplantation</i>
<i>After neonatal cardiac operation</i>
<i>Determination of the diffusion capacity at the alveolocapillary membrane</i>
<i>Exhaled nitric oxide</i>
Toxicology
<i>Acute toxicity of nitric oxide and nitrogen dioxide</i>
<i>Health and safety standards</i>
<i>Toxicity pertaining specifically to nitrogen dioxide</i>
<i>Potential toxicity pertaining specifically to inhaled nitric oxide</i>
Conclusion

SEVENTEEN years ago, Furchgott and Zawadzki¹ demonstrated that the relaxation induced by acetylcholine requires the presence of endothelial cells, and that this effect was mediated by a humoral factor later known as endothelium-derived relaxing factor (EDRF). The subsequent discovery that the formation of nitric oxide (NO), or a closely related molecule synthesized from the guanidino group of L-arginine, by endothelium accounts for the biological activity of EDRF, and has stimulated intensive research about NO biology. The gaseous physical state of NO, its role in the evolution of living systems, its ubiquitous distribution,² the new concept of its endocrine signal transduction by the L-arginine-NO pathway, and its participation in fundamental biological

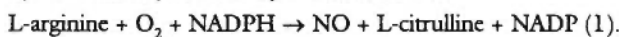
functions, led to a revision of scientists' understanding of biochemistry, physiology, neuroscience and immunology. Because of this, Science magazine awarded NO with the title of molecule of the year in 1992.

The potent vasodilators sodium nitroprusside and organic nitrate esters, such as nitroglycerin, are metabolized to NO, their active moiety. Nitric oxide gas can be administered as inhaled NO (inhNO) via the gas mixture of the patient's breath. Inhaled NO reaches pulmonary vascular smooth muscle by diffusion from ventilated *alveoli*, hence causing vascular relaxation of the adjacent vessels.³ As inhNO in blood stream is rapidly and very specifically inactivated by haemoglobin, its vasodilatory effect seems to be restricted to the pulmonary vasculature and no clear systemic vasodilatation can be seen.^{3,4} This relative selectivity generated the enthusiastic concept of a safe and effective therapy.

We will present the clinical applications of inhNO in various pulmonary pathologies with emphasis on inflammation, followed by the therapeutic and diagnostic indications of inhNO with emphasis on ARDS. Finally, we will discuss the potential dangers associated with the use of inhNO.

Biochemistry

The mediator EDRF/NO is formed from L-arginine by the activity of NO synthase (NOS):



At least three NOS isoforms have been identified. Constitutive forms of NOS (cNOS) include endothelial (eNOS; NOS III), which mediates endothelium-dependent vasodilator responses, and neuronal (nNOS; NOS I) form. There is also an inducible form (iNOS; NOS II) stimulated by cytokines and bacterial endotoxins, which expression is inhibited by corticosteroids.

After its endothelial production, EDRF/NO relaxes adjacent smooth muscle cells by binding to iron (Fe) in the hæm of soluble guanylate cyclase, thereby activating the enzyme to generate cyclic guanosine 3',5'-monophosphate (cGMP). This intracellular messenger elicits smooth muscle relaxation through numerous actions, particularly by stimulating the phosphorylation of poorly defined substrates by cGMP-dependent protein kinase(s) or as a consequence of cGMP-mediated activation or inhibition of phosphodiesterase(s) (PDE) which usually inactivate(s) cGMP and/or cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP).⁵ These in turn lead to a decrease in the intracellular free Ca²⁺ (sarcoplasmic reticulum uptake, complexation with phosphorylated transporters, interference with receptor-operated Ca²⁺ channels, inhibitory effects on phosphatidylinositol 4,5-diphosphate - PiP₂ - hydrolysis), and in the sensitivity of myosin light chain kinase for Ca²⁺.⁶

In water, ultrafiltrate, and plasma, NO is oxidized to NO₂⁻ which is stable for several hours. In whole blood, however, NO₂⁻ is rapidly converted to NO₃⁻. Intermediates produced during the formation of these anions could indeed nitrosylate thiols, although the yield would be very low. Nitric oxide reaching the blood stream can be metabolised *via* three pathways:⁷ 1) interaction with dissolved O₂ in blood to form NO₂⁻; 2) reaction with oxyhaemoglobin to form methaemoglobin, which is in turn reduced back to haemoglobin and NO₃⁻ mainly by the NADPH-methaemoglobin reductase and OONO⁻ pathways, and 3) combination with deoxyhaemoglobin to form rather stable nitrosohaemoglobin or with carrier molecules to form S-nitrosothiols or other packaged forms. (see *Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide* section).

Clinical applications of inhaled nitric oxide

The three NOS isoforms have been identified in human airways.⁸ Established sources of endogenous NO in the lung include the arterial and venous endothelial cells, epithelial cells, inflammatory cells (macrophage, neutrophil, mast cell), fibroblasts, smooth muscle cells, and nonadrenergic-noncholinergic (nitrergic) nerves. High levels of NO are continuously produced in the human upper airways and inhaled at each inspiration.⁹ Pulmonary-produced EDRF/NO maintains the low pulmonary artery pressure (PAP) at rest and during exercise, controls the pulmonary blood flow distribution, opposes hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV)³ and the pulmonary response to endogenous or exogenous vasoconstrictors. Nitric oxide released by nitrergic nerves might control the bronchomotor tone⁹ and NO released by the bronchial epithelium might decrease the submucosal oedema formation, an effect mediated by cGMP. Nitric oxide plays a major role in inflammatory processes, infectious pneumonia, and non-specific defense of the respiratory tract.

Pulmonary hypertension

Pulmonary hypertension is generally characterized by increased pulmonary vascular resistance (PVR), increased thickening of pulmonary artery walls, and right-sided heart failure. The primary goal in pulmonary hypertension is to improve right ventricular output without increasing its work, impairing tissue oxygenation delivery, compromising the haemodynamic function or integrity of the systemic circulation. Therefore, the pulmonary *versus* systemic selectivity of vasodilators is of critical importance.

The decrease in the expression of eNOS observed in pulmonary hypertension contributes to the pulmonary vasoconstriction and the excessive growth of the *tunica media*.¹⁰ In many respects, inhNO can be considered as a

replacement therapy for the loss of endogenous NO production in patients with pulmonary hypertension. Inhaled NO has been used to reverse the pulmonary hypertension induced by hypoxia,³ chronic obstructive pulmonary disease (COPD),¹¹ interstitial pulmonary fibrosis,¹² acute respiratory distress syndrome (ARDS),¹³⁻¹⁵ persistent pulmonary hypertension of the newborn (PPHN),¹⁶ primary pulmonary hypertension (PPH)⁴ and cardiac surgery.¹⁷

The vascular reactivity to inhNO in clinical pulmonary hypertension varies widely, possibly because chronic pulmonary hypertension leads to various degrees of vascular remodeling and medial hypertrophy in the musculature of small pulmonary arteries. It was observed that the degree of acute pulmonary hypertension predicts the degree of responsiveness to inhNO.^{17,18}

It has been shown that zaprinast¹⁹ and dipyridamole²⁰ (PDE-V inhibitors) potentiate and prolong the pulmonary vasodilating action of inhNO, without changing its pulmonary vascular selectivity. Phosphodiesterase-V is a specific cGMP binding PDE found in highest levels in the lung, smooth muscle and platelet. By decreasing the catabolism of cGMP these drugs increase the level of cGMP after its synthesis has been increased by inhNO. The same authors proposed that PDE inhibition increases the response rate to inhNO or allows the use of much lower concentrations of inhNO (Fi_{NO}).^{19,20}

Hypoxaemia

The pulmonary circulation is normally tightly controlled such that there is a matching of perfusion to ventilation through regulation of HPV. Attenuation of HPV results in areas of low ventilation/perfusion ratio (V/Q mismatching) and right-to-left shunting of blood through pulmonary routes. This is the major cause of impaired gas exchange and hypoxaemia in ARDS. Other aetiologies of hypoxaemia involve V/Q imbalance (high and low V/Q) with weak intrapulmonary shunt, such as in COPD, or right-to-left shunting through extrapulmonary routes, such as in some cardiac congenital disorders.

Inhaled NO is qualified as "microselective" in that it dilates only the vessels directly adjacent to the alveolar units being ventilated. Therefore, in patients with intrapulmonary shunt, inhNO can increase oxygenation by improving V/Q matching with redistribution of blood flow from unventilated shunted areas to ventilated but underperfused areas, the so-called "steal phenomenon." This is a major advantage compared to intravenous vasodilators which tend to worsen V/Q mismatching by nonselectively dilating the pulmonary vasculature. Also, alveolar dead space²¹ has been shown to decrease with inhNO. Some authors explained the improved oxygenation by the fact that inhNO produces

cal bronchodilation,²¹ decreases vascular permeability and the pressure-driven oedema formation, and exerts a steric anti-aggregating effect. Paradoxically, inhNO worsened the gas exchanges in some patients with COPD,¹¹ where hypoxaemia is due to broad V/Q heterogeneity, and may reverse HPV.

In patients suffering from ARDS, PAP might be high enough to increase right atrial pressure and induce a right-to-left shunt through a patent *foramen ovale* present in approximately 27% of the population. Inhaled NO, by reducing pulmonary and right atrial pressures while reducing or suppressing the anatomical shunt, may have a major effect on oxygenation,¹² where partial pressure of arterial O₂ (PaO₂) may be increased twenty six-fold.²²

The effect of inhNO on oxygenation can be enhanced by vasoconstrictors, such as almitrine,²³ PGF_{2α}, which are thought to enhance HPV, or by a PDE-V inhibitor.²⁰ The effect of inhNO can also be improved if more *alveoli* are recruited and if an optimal lung volume is achieved such as with positive end-expiratory pressure (PEEP)²¹ and high frequency oscillating ventilation. Finally a combination of gravitational (prone position) and inhNO therapy resulted in an enhancement of the beneficial effects of both therapies.²⁴

Inflammation and pulmonary oedema

Most forms of protective inflammation are exaggerated out of proportion to stimulus, because humoral homeostatic amplification systems (complement and kinin systems, coagulation cascade) recruit additional components of immune system (polymorphonuclear neutrophils - PMNs -, lymphocytes, and monocytes/macrophages) and platelets, initiating the production of pro-inflammatory mediators including cytokines (tumor necrosis factor - TNF-α- and interleukins - ILs -), lipid mediators (prostaglandins - PGs -, TxA₂, platelet-activating factor - PAF -, leukotrienes, etc), reactive O₂ species (ROS: superoxide anion - O₂⁻ -, hydrogen peroxide [H₂O₂ -, hydroxyl radical - OH· -, etc), and NO/cGMP pathway. Moreover, the expression of cells (leucocyte, platelet, endothelium) adhesion molecules (integrins, lectins, etc) and proteolytic enzymes (proteases, collagenase, elastase, gelatinase) contributes to epithelial and endothelial injury (Figure 1). Nitric oxide owes its ambiguous place in inflammation to the various active enzymes of NOS.

Anti-inflammatory activity of NO: The cNOS produce picomolar NO concentrations. Their dysfunctioning inflammation might induce vascular (hypertension) and respiratory (hypoxaemia) disorders. It is well known that EDRF/NO exerts a tonic suppressive action on platelet and leucocyte activation, leucocyte adhesion,

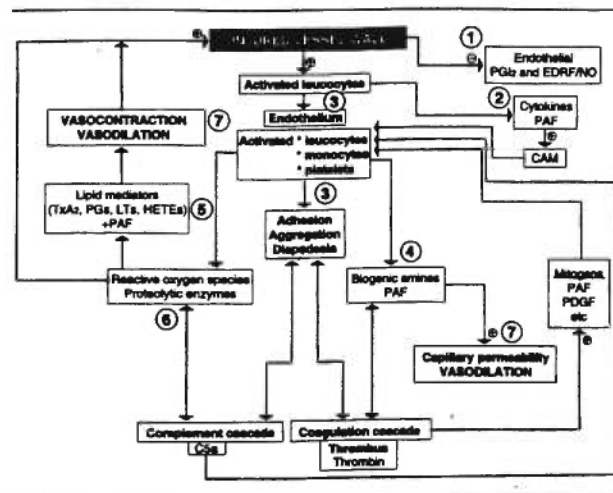


FIGURE 1 Inflammation process in the blood vessel.

The injury of the vessel wall stimulates macrophages, leucocytes and platelets, resulting in their activation, endothelial adhesion, aggregation, and diapedesis. Two main mechanisms are implicated in the inflammation process: the complement and coagulation cascades. Circled numbers indicate the potential sites of action of inhaled nitric oxide on:

1. the rehabilitation of tonic inhibitory influences; 2. cytokines;
3. inflammatory cells; 4. biogenic amines; 5. lipid mediators;
6. reactive O₂ species; 7. hypertension and ventilation/perfusion mismatches.

PGI₂: prostacyclin, EDRF/NO: endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide, PAF: platelet activating factor, CAM: cell adhesion molecules, PDGF: platelet-derived growth factor, TxA₂: thromboxane-A₂, PGs: prostaglandins, LTs: leukotrienes, HETE_s: hydroxyicosatetraenoics, C5a: C5a anaphylatoxin.

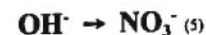
platelet aggregation and adhesion to endothelium, and mast cell degranulation. It inhibits expression of β₂-integrin CD11b/CD18, and recent *in vitro* data suggest a predominant role of EDRF/NO in the reduction of endothelial cells adhesiveness to inflammatory cells.²⁵ The action of NO on *in vitro* pro-inflammatory cytokines production is controversial. Increased TNF-α production by monocytes and PMNs has been described by some investigators,²⁶ whereas others have reported decreased production of IL-1, IL-6, IFN-γ and TNF-α by monocytes and lymphocytes.^{26,27} Racke *et al.*²⁸ have shown that EDRF/NO suppresses the phospholipase A₂-lipoxygenase pathway in rat alveolar macrophages. It attenuates the PiP₂ hydrolysis and consequent action of biogenic amines such as histamine, or eicosanoids such as TxA₂, and it presents a blocking and inactivating effect on protein kinase C activity. Through all these ways, EDRF/NO attenuates the expression of the acute phase response characterised by cell adhesion molecules, cytokines, C-reactive protein, complement, and metal binding proteins.

Experimental evidences support that NO diminishes formation or reactivity of ROS through many potential mechanisms, e.g., by direct interaction with ROS such as $O_2^{\cdot-}$ producing peroxynitrite ($ONOO^{\cdot-}$). Thus, it was concluded by Maulik *et al.*²⁹ that NO is far more anti-oxidant than pro-oxidant.

Superoxide dismutase (SOD) is the classical endogenous mechanism of $O_2^{\cdot-}$ catabolism, and in physiological conditions, the enzyme's concentration is approximately 10^6 -fold greater than those of $O_2^{\cdot-}$ and NO, making $ONOO^{\cdot-}$ formation unlikely.³⁰ During inflammation, $ONOO^{\cdot-}$ formation may be favored owing to the relatively slow enzymatic dismutation of $O_2^{\cdot-}$ by SOD, as well as the relatively longer half-life (up to seconds) of NO. The reactivity and decomposition pathways of $ONOO^{\cdot-}$ are influenced by the chemical environment, the type of target molecules, and are strongly pH-dependent with regard to its *cis* (very stable diffusion form) and *trans* isomeric configurations (Figure 2).³⁰ Simply removing ROS from cells and tissues during inflammation is an important detoxification mechanism. Moreover, NO may compete with SOD for $O_2^{\cdot-}$, thereby removing $O_2^{\cdot-}$ and preserving SOD, further supporting its anti-oxidant role.

Inhibition of EDRF/NO synthesis with N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) facilitates the contribution of H_2O_2 to the leucocyte-endothelial cell adhesion and consequent microvascular permeability in rat mesenteric postcapillary venules.³¹ Cyclic GMP and PDE-II inhibitor reduce the porcine pulmonary artery endothelial hyperpermeability.³² In previous studies, the same authors determined the endothelial PDE isozyme spectrum and found in swine that these cells lack PDE-V, the "classical" cGMP-degrading PDE in human. However, PDE-II was identified in swine as the major endothelial cGMP-degrading pathway. These studies outline the importance of NO and the second messenger system, cytosolic guanylate cyclase-cGMP, as a primary homeostatic regulator of microvascular permeability.

Pro-inflammatory activity of NO: Nitric oxide is released in high nanomolar concentrations by activated macrophages and PMNs for its cytostatic and cytotoxic effect mainly by altering Fe intracellular homeostasis.² It has also been shown that iNOS is present in airway epithelium of asthmatic subjects and that lung tissue contains significant amount of Ca^{2+} -independent NOS activity in inflammatory diseases such as cystic fibrosis and obliterative bronchiolitis.³³ Estrada *et al.*³⁴ showed that cytokines-induced NO production might injure endothelial cells. The deleterious effect of excessive NO production in sepsis patients may not be limited to uncontrolled vasodilation and/or vasoplegia. Elusive "myocardial depressant



Adapted from Beckman.³⁰

FIGURE 2 Summary of the peroxynitrite reactivity and decomposition pathways.

In the *cis* form and at high physiological pH, peroxynitrite ($ONOO^{\cdot-}$) is very stable (diffusion form), and should preferentially react (2) with sulfhydryl (-SH) group and ascorbate, which are present in most biological systems. Oxidation of critical SH groups is responsible for the inhibition of mitochondrial and cytosolic aconitase (necessary for the Krebs cycle) and other critical enzymes in the mitochondrial respiratory chain and disruption of the zinc-thiolate center at the active site of enzymes. In the *trans* form, a slight acidic pH will favor reaction (3) supported mainly by *in vitro* experiments, whereas at neutral pH, nitration reaction (4) need to be catalyzed by superoxide dismutase (SOD) or transitional metals (Fe, Cu). For instance, tyrosine nitration may lead to dysfunction of nitrated proteins such as SOD, cytoskeletal actin, and neuronal tyrosine hydroxylase. At slight alkaline pH (8), $ONOO^{\cdot-}$ will isomerise directly (5) in nitrate ($NO_3^{\cdot-}$). Moreover, in the presence of plasma, proteins, glucose, or glutathione, $ONOO^{\cdot-}$ can form intermediates that act as NO donors.

factor(s)" of sepsis may be cytokines (particularly IL-1, TNF- α) which act to depress myocardial performance *via* NO/cGMP-dependent mechanisms.³⁵

Moreover, $ONOO^{\cdot-}$ mediated tissue injury has been implicated as being important in the pathogenesis of ARDS. Peroxynitrite is able to inhibit mitochondrial respiration, or α_1 -antiprotease which protects the lung from PMNs-dependent proteases, to damage surfactant components, and to alter amiloride sensitive- Na^+ channels which play an important role in the control of pulmonary oedema.³⁰ It might also induce lipid peroxidation as well as protein and DNA dysfunction with tyrosine nitration.³⁶ Nitric oxide could also react with H_2O_2 generating a highly ROS, the singlet O_2^{\cdot} .³⁷

Sites of inhNO action on inflammation: The 7th site of action noted in Figure 1 indicates the anti-hypertensive and oxygenative properties of inhNO. Moreover, inhNO might have a predominant effect on postcapillary sphinc-

is reducing the resistance more on the venous than on the arterial side of the pulmonary circulation,³⁸ and the pressure-driven oedema. Inhaled NO attenuates the increase in pulmonary vascular permeability resulting from infusion of xanthine/xanthine oxidase, and glucose/glucose oxidase, respectively $O_2^{\cdot-}$, and H_2O_2 generating systems (#6 action). After 4 days of NO inhalation (8 parts-per-million - ppm -), PMNs from bronchoalveolar lavage in ARDS patients showed a reduction in spontaneous H_2O_2 production³⁹ (possibly explained by NO scavenging of $O_2^{\cdot-}$: #6 action). Indeed, Garat *et al.*⁴⁰ observed that 10 ppm inhNO during prolonged exposure to 100% O_2 decreased pulmonary oedema, increased lung endothelium permeability, and increased alveolar liquid clearance. Inhaled NO reverses the cardiovascular and respiratory disorders of eicosanoid (#5 action)⁴¹ or amine (#4 action) infusion. It reduces the pulmonary platelet and PMNs sequestration,⁴² probably by inhibition of aggregation⁴³ and/or adhesion of these cells (#3 action). Chollet-Martin *et al.*,³⁹ also showed that inhNO decreases β_2 -integrin CD11b/CD18 expression (#3 action) and the high levels of cytokines (IL-6 and IL-8) decreased in bronchoalveolar lavage fluid supernatants after NO inhalation (#2 action). Finally, the potential beneficial interrelations of these different actions, and the critical timing of inhNO initiation in a model of acute lung injury⁴⁴ outline the importance to re-establish as soon as possible the tonic inhibition of EDRF/NO suppressed by inflammation (#1 action).

EXTRAPULMONARY EFFECTS OF INHALED NITRIC OXIDE
A fundamental question of how EDRF/NO exerts its biological activity, particularly its transport to molecular targets, remains unknown.⁷ Metal nitrosylation with haem and nonhaem proteins as well as the reactions of NO with nucleophilic groups (e.g., sulfhydryl, amine) of amino acids, peptides, and proteins lead to the potential interactions and formation of many nitrosyl-haem adducts, nonprotein-nitrosothiols, S-nitrosylated proteins,² nitrosylated Fe-sulfur clusters, nitrosamines, and others. Molecules present the greater prevalence and reactivity over other biological nucleophiles, and sulfhydryl radicals are found abundantly in proteins. Particularly, the S-nitrosothiols⁴⁵ and S-nitrosohaemoglobins⁷ might constitute a reservoir which could protect EDRF/NO from its inactivation in the blood stream, and have EDRF-like properties distant (spatially and temporally) from its site of production.⁴⁵

HAEMODYNAMIC EFFECTS OF INHALED NITRIC OXIDE
In a previous study,⁴⁶ we have already suggested that inhNO has a direct cardiac effect identical to that of endothelium-independent nitrovasodilators, such as

depressed myocardial contractility, improved ventricular relaxation and diastolic distensibility.⁴⁷ Frostell *et al.*³ observed a slow decaying effect on PAP from previous NO inhalation for which they proposed a mechanism of storage or binding of NO to proteins or the formation of thiols in lung tissue. Shah *et al.*⁴⁸ reported a small but significant drop in systemic arterial pressure only at the highest Fi_{NO} (80 ppm).

PLATELET EFFECTS OF INHALED NITRIC OXIDE

It is well known that platelets flowing through the lungs treated with inhNO will show increased cGMP level,⁴³ and this may prolong the bleeding time. Recent data have shown that inhNO decreased platelet aggregation in patients suffering from ARDS,⁴³ but had no effect on platelet aggregability nor bleeding time in healthy subjects.⁴⁹

RENAL EFFECTS OF INHALED NITRIC OXIDE

We have also established that 40 ppm inhNO increases renal blood flow, glomerular filtration rate and diuresis in pigs, independently of its effect on pulmonary and systemic haemodynamics.⁵⁰ In view of the rapid renal response to application and discontinuation of inhNO, we postulate that inhNO may be accompanied by non-selective, extrapulmonary effects due to local delivery of NO on peripheral territories including the renal bed.

Therapeutic indications of inhaled nitric oxide

Pediatric patients

PERSISTENT PULMONARY

HYPERTENSION OF THE NEWBORN

In neonates with PPHN, inhNO is very efficient to reduce PAP and PVR, improve the oxygenation, and avoid the treatment with extracorporeal membrane oxygenation (ECMO).¹⁶ The increase in flow through the lung can in turn increase EDRF/NO production by the pulmonary endothelial cells, through stimuli such as PaO_2 (O_2 is a cosubstrate of NOS) and shear stress. The persistent foetal circulation is probably due to immature EDRF/NO response or impaired endogenous EDRF/NO activity.⁵¹ Several prospective clinical trials are underway to determine if inhNO is really the ideal therapeutic agent for this pathology, without any toxicity and adverse reactions.

CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA

Similar to PPHN, congenital diaphragmatic hernia is a disease in which potentially reversible pulmonary hypertension may produce hypoxaemia. Various reports mention the usefulness of inhNO improving oxygenation before proceeding with repair of the diaphragmatic hernia.⁵²

CONGENITAL HEART DISEASE

Of the various congenital heart diseases, many are associated with progressive pulmonary hypertension, reversing the left-to-right shunt (due to a defect at the atrial, ventricular, or aortopulmonary level) to a right-to-left or bidirectional shunt (Eisenmenger's syndrome) leading to clinical cyanosis and the secondary manifestations of chronic hypoxæmia. In these conditions, reports indicate that inhNO is efficient in reducing PAP and improving oxygenation.⁵³ Other applications of inhNO involve perioperative pediatric surgery, and are addressed in the *Heart/lung surgery* section.

Heart/lung surgery

The pathogenesis of organ injury following extracorporeal circulation involves many inflammatory cascades and cellular components of the immune system. Pulmonary hypertension is a common feature following congenital heart defect repair in children, valvular or coronary artery bypass surgery in adults,¹⁷ or heart and/or lung transplantation.

One therapeutic approach is to target the PMNs with mechanical removal of circulating PMNs or modulation of the adherence of PMNs to endothelium. Another approach is to recreate the inhibitory influences which were attenuated during the inflammatory process (see *Inflammation* section).

Several publications^{17,54} have shown that inhNO is efficient in reducing pulmonary hypertension in these situations and most of the pediatric cardiac surgery teams, which have the opportunity, are using inhNO as first medication. Inhaled NO is the medication of choice for treatment of pulmonary hypertension and hypoxæmia following cardiopulmonary bypass or the use of a ventricular assist device,⁵⁵ for mitral valve replacement,¹⁷ coronary artery bypass graft,¹⁷ heart or lung transplantation, and pulmonary embolism.⁵⁶

Primary pulmonary hypertension

Primary pulmonary hypertension was the first pulmonary hypertensive syndrome reported to respond to inhNO. Sitbon *et al.*⁵⁷ concluded that inhNO could thus now be regarded as the gold standard screening agent in patients with PPH evaluated for vasodilator therapy, although its long-term use and safety in these patients remains to be evaluated. Other issues such as dose-response data, its effects on oxygenation and its role as a bridge to lung transplantation also need to be adequately assessed.

Chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary fibrosis

The efficacy of inhNO to decrease the pulmonary hypertension observed in COPD¹¹ and pulmonary

fibrosis¹² is well recognized. However, the effect of inhNO on gas exchange in such patients has sometimes been disappointing despite concomitant and consistent reduction in pulmonary hypertension.¹¹ As mentioned in the *Oxygenation* section, this defect is due to the reversion of HPV by inhNO. Other authors reported an improvement in arterial oxygenation.⁵⁸ Once again appropriate studies are necessary to determine the real adequacy of inhNO with such patients as a long-term therapeutic strategy.

Bronchospastic disease

Inhaled NO is a powerful bronchodilator comparable, and additive, to β_2 -agonists in animal models of induced bronchospasm.⁵⁹ In healthy men, inhNO (80 ppm) had a modest bronchodilatory effect compared to β -sympathomimetic drugs, where it only slightly increased conductance.⁶⁰ The same dose had no effect on airway tone of healthy volunteers and COPD patients, and only weak bronchodilatory effect in asthmatic patients.⁶¹ There is a relative dose/effect relationship with increased doses showing successively stronger effects on oxygenation, pulmonary hypertension, and bronchomotor tone.

Acute respiratory distress syndrome

Initially viewed solely as a surfactant abnormality, identical to that seen in neonatal respiratory distress syndrome,⁶² ARDS is now considered as an inflammatory process, the magnitude of which transcends the pulmonary lesion and includes involvement of the microvasculature in multiple organ systems.⁶³ Therefore, in patients suffering from ARDS, the pattern of inflammation, as previously described, is prominent, and the endothelial dysfunction seems most often to precede the epithelial injury.

Almost three decades after the first description of ARDS by Ashbaugh *et al.*,⁶² the survival rate is not markedly improved despite complex and expensive curative technologies.⁶⁴ The intrinsic heterogeneity of study populations, the potential confounding influence of variables other than primary damage, and the highly variable time-course to complete resolution or death, all hamper the ongoing evaluation of new therapies and underline the need for larger sample size. Ventilatory support remains the cornerstone of ARDS clinical management. The benefits of PEEP were first noted by Ashbaugh *et al.*⁶² Several other ventilatory approaches have been tested including inverse-ratio, pressure-controlled and high-frequency jet ventilation, permissive hypercapnia, ventilation in prone position, ECMO, or intravascular oxygenators. The main goal of these strategies is to increase systemic oxygenation and at the

ne time reduce the potential O₂ toxicity, barotrauma and/or volotrauma. However, no randomized controlled trials have found clear benefit of these therapies. The other experimental approaches to ARDS aim at limiting the pulmonary damage and the inflammatory process. Using exogenous surfactant, perfluorocarbon, dexamethasone, almitrine, pentoxifylline, PGE₁, antagonists of PAF, IL-1, IL-6, TNF- α or leukotriene B₄ receptors have shown some encouraging results. But are they efficacious on human ARDS, without side effects and complications, and are they affordable?

As previously demonstrated, inhNO's local effects on pulmonary hypertension and consequently on right ventricular dysfunction, oxygenation, inflammation or pulmonary oedema, argue for its use in ARDS. Moreover, the extrapulmonary effects of inhNO (i.e., against platelet activation,⁴³ cardiac positive lusitropic,^{65,66} and renal protective⁵⁰ effects) could also be helpful on the systemic disorders observed with ARDS.

However, at this time, it is impossible to corroborate the prognosis of the disease and the efficiency of the NO treatment on the pulmonary function. Wenstone and Wilkes⁶⁷ mentioned that it seems unlikely that new therapies directed solely at treatment of the lung will decrease the mortality significantly from what is essential to an inflammatory systemic disease. Owing to the absence of appropriate studies, several unresolved questions persist: 1) Incidence of inhNO on ARDS mortality; 2) Methodological criteria for NO inhalation on the choice of time and patients to treat, NO dose-response, concomitant treatments? 3) Potential toxicity of inhNO? (see Toxicology section).

We undertook an analysis, to our knowledge, of all available data pertaining to the treatment of ARDS with NO in order to obtain a larger sample size and a better idea of the heterogeneity between studies (Table).

1) McIntyre *et al.*⁶⁸ noted that "In the studies done by Rossaint¹³ and Gerlach,¹⁴ the majority of patients with ARDS as the result of direct lung injury. Two-thirds of the patients also had ECMO. Thus, it is unclear if these results may be extended to patients with ARDS due to systemic aetiologies not treated with ECMO." If the noteworthy work of Murray *et al.*⁶⁹ helped establish a universal definition of ARDS, the critical remark of McIntyre *et al.*⁶⁸ questions the heterogeneity of populations and treatments between the clinical studies on ARDS treated with inhNO. With our analysis, the global survival rate of ARDS patients with inhNO (n=256) is 54.7%, which is not different from previous studies not using inhNO.⁶² Moreover, when distinguishing the pulmonary from systemic aetiology of ARDS, we find respective survival rates of 69.4% (n=98) and 40.2% (n=97).

Since the first enthusiastic report of Rossaint *et al.*,¹³ and despite the recommendations of the American-European ARDS consensus,⁶³ no study has been appropriately designed to address the clinical outcome of ARDS patients treated with inhNO. Small sample sizes, heterogeneous populations and treatments, as well as selection bias (only 5/28 studies^{13,65,70-72} were clearly randomized), plagued previous studies on the effect of inhNO in ARDS patients. Moreover, none of them used a control group without inhNO monitored in parallel except Chollet-Martin *et al.*³⁹ whose main objective was not the survival rate, Blaise *et al.*⁷² who realized a pilot randomized controlled clinical trial, and Rossaint *et al.*⁷³ whose study was retrospective. Several of these studies carried out a cross-over design with PGI₂^{13,65,71} or almitrine^{74,75} to study the efficiency of inhNO on hypoxaemia. This design, however, cannot address important clinical outcomes such as survival or weaning and is very limited by the fact that ARDS condition is not stable in time. The lack of consistency in previous studies could result from the high variety of ARDS aetiologies, the large Fi_{NO} (10 parts-per-billion - ppb -¹⁴ to 128 ppm⁷⁶) and age (17³ to 81^{70,77} years) ranges. Most of the authors used a unique Fi_{NO} dose, which does not optimize treatment. Finally, several studies used concomitant treatments such as ECMO,^{13,14,65,73,78} permissive hypercapnia,^{70,77,79,80} or vasoactive drugs,^{18,66,74,76,79,81,82} which make it difficult to compare outcomes. Two other multicenter randomized prospective clinical trials are under way to determine the exact role of inhNO in ARDS morbidity and mortality.

2) Despite the improvement in PAP and oxygenation, it was not possible to find an improvement in the survival rate induced with inhNO in patients suffering from moderate to severe lung injury. It is possible that inhNO has been used at a late stage of the disease,¹⁵ and that early treatment could be more efficient on mortality, as suggested by experimental report.⁴⁴ The effects of inhNO appear within 10 seconds after initiating treatment,⁷⁰ and reverse as rapidly after stopping treatment. Tachyphylaxis has not been demonstrated, but dependence on inhNO for maintaining arterial oxygenation and pulmonary haemodynamic stability occurs. In our own experience⁷² of sepsis-induced ARDS, we have observed that inhNO initially improved PAP and oxygenation. This effect was sustained in time but no secondary improvement in pulmonary function occurred after the initial effects, and the mortality rate was the same in the group of patients treated with inhNO (n=15) and in the control group (n=15).

A first predictive indication seems to come from the ARDS aetiology (direct *versus* indirect lung injury). During the past two years, it became evident that several authors tried to define a subgroup of patients to

TABLE Available data on treatment of ARDS with inhNO.

Reference	n=	Age-range (Years)	LIS-range	iPAP _M (mmHg)	fPAP _M (mmHg)	iPaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	fPaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	Fi _{NO} (ppm)	% NR	Survival rate (%)
Rossaint ¹³	10	17-46	3.20-4.00	37 ± 3	30 ± 2	152 ± 15	199 ± 23	18 and 36	-	80
Gerlach ¹⁴	12†	9-53	3.00-4.00	41.7 ± 4.2	28.9 ± 1.4	75.3 ± 8.2	-	0.001-100	-	-
Gerlach ⁷⁸	3	13-35	3.00-3.75	-	-	58 ± 13.1	75.4††	0.06-0.23	0	100
Wysocki ⁸⁰	4	-	2.9 ± 0.2††	34 ± 2	28 ± 7	82 ± 37	126 ± 79	10-20	0	50
Ricou ⁸³	5	-	> 2.50	35 ± 3.5	31.8 ± 3.4	-	-	25-45	80	-
Bigatello ¹⁸	13	22-71	3.00-4.00	34 ± 1.9	30 ± 1.9	126 ± 9.6	149 ± 10.1	0-40	54	31
Germann ²⁴	6	-	> 2.50	33.3 ± 2.1	26.9 ± 2.5	117.2 ± 11.8	148.1 ± 13.8	10	-	-
Puybasset ⁷⁰	6	20-81	2.50-3.50	33 ± 3	-	-	-	0.1-5	0	83
Wysocki ⁷⁴	17	19-71	2.75-3.66	30 ± 1.2	26 ± 1.2	88 ± 7.3	98 ± 9	5-10	59	-
Young ⁷⁶	14	20-75	-	37.6 ± 5.3	35.9 ± 5.9	94 ± 11.2	-	8-128	39	-
Puybasset ⁷⁷	11‡	20-81	2.50-3.75	31 ± 6	28 ± 4	184 ± 67	270 ± 87	2	-	-
Mira ⁸¹	6	-	3.00-3.50	43	36	79	118	15	100	17
Monchi ⁸⁴	19	-	-	-	-	-	-	15	47	-
Roupie ⁸⁵	17	-	> 2.50	-	-	-	-	10	65	-
Steltzer ⁸⁶	28	-	> 2.50	-	-	-	-	-	64	43
Samama ⁴³	6	25-64	2.00-3.70	26 ± 8	21 ± 8	151 ± 70	244 ± 83	3	-	100
Rossaint ⁶⁵	10 [§]	11-30	2.50-4.00	33 ± 2	28 ± 1	135 ± 18	195 ± 27	18 and 36	-	70
Fierobe ⁶⁶	13	18-45	2.50-4.00	36.1 ± 1.2	31.3 ± 1.7	103 ± 13	142 ± 17.5	5	23	69
McIntyre ⁶⁸	14	18-80	-	41.1 ± 1.8	34.3 ± 1.3	69.5 ± 3.9	100.8 ± 9.5	20 and 40	29	50
Blaise ⁷²	15†	20-72	2.50-3.75	30.2 ± 1.2	26.9 ± 1.3 ^{§§}	119.4 ± 13.6	189.8 ± 13.4 ^{§§}	8.5 ± 2.6 ^{§§}	33.3	40
Rossaint ⁷³	26‡	1-62	2.50-4.00	35 ± 2	31 ± 2	98 ± 8	132 ± 12	0.01-25	46	69
Li ⁷⁵	6**	25-69	2.30-3.00	31 ± 8.2	-	99 ± 8.7	158.4††	0.15-45	-	67
Levy ⁷⁹	20	20-80	3.60 ± 0.2††	31 ± 3	30 ± 2	78 ± 10	130 ± 25	5-10	5	70
Levy ⁸²	30	-	3.45††	29 ± 3	28 ± 2	81 ± 8	-	5	7	-
Lowson* 1/2 ¹⁵	10	36-67	2.75-4.00	38 ± 3.5	-	136 ± 16.8	171.4††	5-20	10	50
Lowson* 2/2 ¹⁵	8	22-72	2.75-4.00	36.4 ± 2.5	-	93.8 ± 7.3	114.4††	0.1-10	13	38
Chollet-Martin ³⁹	9††	16-60	2.00-4.00	-	-	114 ± 9.2	182 ± 11.5	18	11	-
Walmrath ⁷¹	16	22-72	2.60-3.30	34.8 ± 2.2	33 ± 1.8	115 ± 11.7	144 ± 14.5	2-40	-	56
Krafft ⁸⁷	25	19-74	2.50-4.00	-	-	93 ± 7.6	-	18 and 36	60	44
TOTAL (28)	379	1-81	2.00-4.00	26-43 34.3 ± 0.9	21-36 29.4 ± 0.8	58-184 106 ± 6.7	75.4-270 155 ± 9.9	0.01-128	115/301 38.2%	140/256 54.7%

Abbreviations:

n=sample size; LIS-range: lung injury score of Murray *et al.*⁶⁹; iPAP_M: initial mean pulmonary arterial pressure; fPAP_M: final mean pulmonary arterial pressure after inhNO treatment; iPaO₂/FiO₂: initial hypoxia score; fPaO₂/FiO₂: final hypoxia score after inhNO treatment; Fi_{NO}: inspired fraction of NO; %NR: percentage of nonresponders to inhNO.

Footnotes:

* The study of Lowson *et al.*¹⁵ was divided in 2 parts;

† The 3 patients of Gerlach *et al.*⁷⁸ were included in this study;

‡ The authors have excluded 7 ARDS patients of sepsis origin, 3 of which were nonresponders to inhNO treatment;

§ Five of these patients were previously presented¹³;

¶ The authors used a control group treated with usual care comprising of 15 patients;

|| The ARDS patients were matched with 57 control patients;

** Five nonresponders to inhNO treatment were excluded;

†† The authors used a control group comprising of 5 patients;

‡‡ Only mean values were available;

§§ These results were obtained after determination of the initial optimal Fi_{NO} during the inclusion-day;

¶¶ The values were calculated from indicated percentage increases.

treat. The consequence was the appearance of nonresponders to inhNO. First described by Ricou and Suter,⁸³ several authors proposed different criteria to define nonresponders.^{15,68,71-74,76,81-87} A level of improvement of 20% in hypoxia score (PaO₂/FiO₂) is found in the majority of the literature, but we also agree

with Lowson *et al.*¹⁵ that all patients presenting an increase in PaO₂/FiO₂ due solely to inhNO must be considered as a responder. By using each author's criteria, we found that the survival rate in responders was 59.2% (n=71), significantly higher than that of nonresponders (23.2%; n=43).

Possible reasons about nonresponsiveness to inhNO include the patient's age,⁸⁵ aetiology (sepsis is mainly rminated),⁷² pathophysiology and severity of the ult,^{73,82} particularly the V/Q mismatching (as in)PD)^{68,73} or an impaired cardiac reserve.⁸⁷ Other hypotheses include a failure in the target enzyme (i.e., soluble guanylate cyclase of pulmonary vascular ooth muscle)^{81,82} and an inappropriate concentration exogenous NO.⁷³

To avoid this latter situation, we recommend the ablishment of an optimal dose against oxygenation d/or pulmonary hypertension. In our clinical d,⁷² the minimum Fi_{NO} which had a maximal effect PaO_2 was determined daily for every patient. This timal Fi_{NO} varied from 500 ppb to 40 ppm, accor- ig to the protocol, and the mean dose used for the al inhNO treatment duration (8.1 ± 1.3 days) was 5 ± 1.8 ppm (mean \pm SE).

Inhaled NO could reversibly inhibit the NOS present the airways and pulmonary circulation and decrease : endogenous pulmonary NO produced.^{18,78} This wn-regulation of pulmonary NOS could explain the ound pulmonary hypertension often seen when dNO treatment is suddenly interrupted.⁸⁸ Daily opti- d Fi_{NO} determination, through regular reverse dose- ponce assessments allowed patients to be gradually ned from inhNO and limits this risk.

It is interesting to note that Levy *et al.*⁷⁹ found a ortality rate of 30% (n=20) when using therapeutic timization (inhNO, vasoactive drugs, permissive percapnia, PEEP, pressure-controlled with inverse io ventilation, tracheal gas insufflation, prone posi- n, pleural drainage, continuous h mofiltration, nsfusion, treatment of infection and corticosteroids) ARDS patients. The use of concomitant treatment to dNO seems to be one other way of the future.

agnostic indications of nitric oxide

agnosis of pulmonary hypertension reversibility

FORE CARDIAC TRANSPLANTATION

haled NO (80 ppm) was used in 11 patients to test : reversibility of pulmonary hypertension, and estab- lish the indications for heart or heart/lung transplanta- n.⁸⁹ Inhaling low levels of NO may provide an portant and safe means for evaluating the pulmonary odilatory capacity of patients with congenital heart ease without producing systemic vasodilation. In dition, studies have suggested that inhNO can be :cessfully used for graft dysfunction following lung nsplantation, even in life-threatening situation.

However, several cases of pulmonary oedema have en observed in patient candidates for heart trans-

plantation in whom inhNO was used as a screening for the reversibility of pulmonary hypertension.⁹⁰ This adverse effect will be discussed in the Toxicology, *Potential toxicity pertaining specifically to inhaled nitric oxide* section.

AFTER NEONATAL CARDIAC OPERATION

The use of a short challenge with inhNO was reported after operation in the neonate with congenital heart disease and proximal pulmonary artery hypertension or excessive cyanosis. The results of such a challenge may be used advantageously to direct therapy in the patient with pulmonary vasoconstriction who shows response to inhNO or in the patient who is nonresponder to inhNO with indication of further investigation of surgically remediable obstruction to pulmonary blood flow.

Determination of the diffusion capacity at the alveolocapillary membrane

Carbon monoxide (CO) is used to measure the pulmonary diffusing capacity (D_L) because of its very high affinity for h moglobin, and because of its uptake almost independent of capillary blood flow. Various factors favor the replacement of CO by NO. The velocity constant of combination of NO with h moglobin is almost 280 times faster than that of CO and about 5 times faster than that of O_2 . Nitric oxide is close to twice as soluble in water than CO (at 37.5 C). Nitric oxide has 1 500 times more affinity for h moglobin than CO, and a D_L value four-fold greater.⁹¹ Nitric oxide is therefore more independent of capillary blood flow than CO, and better suited to measure D_L .

Exhaled nitric oxide

Breathholding from 5 to 60 seconds increased peak exhaled NO from 6.1 ± 2.2 ppb to 143 ± 48 ppb respectively, but end-expiratory NO levels only increased from 3.9 ± 0.7 ppb to 11 ± 2.9 ppb.⁹² Smokers are known to have lower levels of exhaled NO, while intubated patients showed no exhaled NO, or extremely low levels in their exhaled air.⁹ It is now known that asthmatic and bronchiectatic patients exhale greater peak levels of NO when not treated with inhaled corticosteroids, as opposed to those under treatment and normal subjects. Furthermore, symptoms of upper respiratory tract infections markedly increased the concentration of exhaled NO (315 ± 57 ppb).⁹³ These studies emphasize the fact that chronic inflammation in the respiratory tract may be cytokine-mediated, and that exhaled NO could be used to assess disease severity and thereafter to judge the efficacy of appropriate treatment. Exhaled NO in septic shock might be used as a marker of endogenous NO production and correlated to the plasma level of NO_x^- .

Gerlach *et al.*,⁹ found that exhaled NO was mostly produced in the upper airways, and Lundberg *et al.*⁹⁴ confirmed that NO originates mainly from the epithelium of the paranasal sinuses in concentrations ranging from 890 ppb to 23 300 ppb. Inhaled endogenous NO may enhance the pulmonary O₂ uptake or contribute to the successful circulatory adaptation necessary at birth by controlling pulmonary and airway blood flow and airway diameter. Localized responses, including secretory immunoglobulin A, mucus, and the rapid flow in the respiratory tract are important first-line host-defense mechanisms that protect our internal and external environments. Inhaled endogenous NO was shown to be implicated in all these phenomena, particularly controlling the epithelial ciliar motility or killing bacteria.

Toxicology

Acute toxicity of nitric oxide and nitrogen dioxide

The inhalation toxicology of NO and NO₂ are difficult to ascertain separately because of the oxidation of NO to NO₂ (and other NO_x) in the presence of O₂. Nitric oxide and NO₂ have been responsible for a death which occurred in 1967 during anaesthesia. A nitrous oxide (N₂O) cylinder had been contaminated by a large amount of NO and NO₂. Nitric oxide and NO₂ are also responsible for the death occurring as a result of silo filler's disease, when farmers go inside poorly ventilated silos and inhale large amounts of NO and NO₂. In these situations, a pulmonary oedema with increased permeability was induced by the oxidative stress due to NO, NO₂, resulting in an acid pneumonitis. It is expected that human exposure to 25 ppm NO₂ for 60 minutes can lead to respiratory irritation and chest pain, whereas 50 ppm can cause pulmonary oedema.⁹⁵

Health and safety standards

Threshold limit values have been set by the U.S.A. Occupational Safety and Health Administration (OSHA) for permissible exposure limit for workers. The OSHA has set permissible exposure limits for NO not to exceed 25 ppm for an 8-hour time-weighted average period, and for NO₂ not to exceed 5 ppm during any part of the working day. On the other hand, the U.S.A. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) has set the recommended exposure limit for NO₂ not to exceed 1 ppm for a 15 minutes exposure, and a maximum inhaled NO₂ level of 5 ppm. The U.K. standard set by the Health and Safety Executive is 3 ppm NO₂, and in France 2 ppm for NO_xs. Although there is consensus for NO exposure limits, NO₂ is still controversial.

Toxicity pertaining specifically to nitrogen dioxide

Nitrogen dioxide is an oxidant gas that contaminates ambient air in many urban and industrial sites, and indoor air in homes with combustion appliances. The primary site of damage after NO₂ inhalation is the terminal bronchioles and the proximal *alveoli*. Like ozone (O₃), NO₂ causes oxidative damage that results in the generation of free radicals that may oxidize amino acids and initiate lipid peroxidation in pulmonary cell membrane. The lung injury is characterized by increased extravascular lung water, extravasated erythrocytes, type II pneumocytes hyperplasia and accumulation of fibrin, polymorphonuclear cells and alveolar macrophages in the *alveoli*. Nitrogen dioxide may adversely affect the efficiency of lung defense such as the mucociliary clearance, the alveolar macrophage, and the immune system. However, the combined effect of pulmonary inflammation, high FiO₂, high ventilatory pressure and NO₂ on long term pulmonary function is not known.

Potential toxicity pertaining specifically to inhaled nitric oxide

Nitric oxide is 5 times less oxidant than NO₂ and 25 to 50 times less oxidant than O₃. Concentrations of inhNO as high as tens of ppm have been given to patients for weeks without apparent toxic pulmonary effects, and 80 ppm inhNO in healthy volunteers or in patients with COPD did not affect airway conductance.⁶¹

The safety levels of the above mentioned administrative authorities are based on earlier studies on NO and NO₂ toxicity. Interpretation of those studies in the context of long-term administration of inhNO is complicated by several factors. In our opinion, standards must be revised and adapted, taking into account that patients may inhale the gas 24 hours a day for long periods of time, and our better knowledge of inhNO dose-efficiency and indications (dose-response relationship for bronchodilation, vasodilation, and oxygenation).

It was suggested that the potential toxicity of inhNO comes not from NO itself but from its reaction product with O₂⁻, i.e., OONO⁻ (Figure 2).⁹⁶ Direct intratracheal administration of inhNO could be noxious since it might induce local mucosal lesions on the epithelial lining of airways, and decrease the surface activity of alveolar surfactant dependently of the relative concentrations of individual species (O₂⁻, NO, ONOO⁻) responsible of its pro-oxidant activity. Inhaled NO may exert a negative feed-back on the endogenous pulmonary vasodilation which creates dependency of treated patients to the inhNO therapy.

The other potential dangers of inhNO come from its extrapulmonary effects. The platelet effects of inhNO

crease the bleeding time only in presence of coagulopathy.⁴³ Cardiac activity may have adverse effects (pulmonary oedema) in patients with severe heart failure.⁹⁰ The cause of pulmonary oedema development was unclear and a mechanical origin (increased pulmonary edge and left ventricular filling pressure), associated with a poor left ventricular function, and/or an alteration of the permeability induced by inhNO was proposed. However, a theoretic analysis⁹⁷ has established that, in this situation, an increase in pulmonary venous pressure was compatible with a drop in PVR. We have also encountered the same problem with two young women with PPH who developed pulmonary oedema (Blaise G, Bancœur M, Troncy E, unpublished data, 1996). Also, inhNO caused a severe systemic hypotension in a cardiac shunt defect by reversing the left-to-right shunt.²²

In most clinical situations, methaemoglobin levels remain low during inhNO therapy and no bleeding complications occurred. The disease and the conditions of use of inhNO therapy⁹⁸ (high concentrations, long duration of treatment, concomitant intravenous nitrovasodilators, etc.) may influence the rate of formation of methaemoglobin. Indeed, Dyar *et al.*⁹⁹ observed a linear increase of methaemoglobin with 512 ppm inhNO (in sheep), and found that it increased to 11% after only 20 minutes of inhalation, confirming that increase in methaemoglobinemia is both time and dose-dependent. Moreover, some patients may have a partial (such as native Americans) or complete (immature system in neonates) deficiency in methaemoglobin reductase. With careful monitoring and appropriate management, it appears that inhNO is safe for these patients. An increased methaemoglobinemia is usually easily treated by reducing the F_{iNO} ; only rarely does a treatment with methylene blue or *N*-acetyl-L-cysteine have to be used. In one case,⁹⁸ methaemoglobinemia increased up to 14% (with 80 ppm) and was treated with 100 mg vitamin C and a blood transfusion where it returned to 8%. The dose-dependent methaemoglobinemia could be increased with a deficiency in glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6-PD). Individuals with this deficiency, most frequently of African or Mediterranean extraction, are asymptomatic until oxidative stress such as 2O_2 depletes the glutathione reductive pathway in the erythrocytes, inducing methaemoglobinemia formation.

Conclusion

In 1994, Frostell¹⁰⁰ wrote "It is a sincere hope that the promising development of inhaled nitric oxide as a therapy ... is not jeopardized by our own over-enthusiastic and ill-advised use outside randomized trials." In 1997, the question of the real therapeutic role of inhNO remains. With the discovery of extrapulmonary effects of inhNO, its useful range of action will tran-

sced the pulmonary area and the classical view of inhNO as a selective pulmonary vasodilator. The importance of indicating inhNO in neonatal and pediatric critical care is becoming more evident every day. With regards to its potential deleterious effects, the parameters of inhNO use need to be assessed, particularly in adults. Inhaled NO should be used in a selective and controlled manner in intensive care units if we wish to avoid situations where disappointments surpass expectations. During and after cardiac and/or pulmonary surgery, inhNO is a powerful therapeutic tool as a selective pulmonary anti-hypertensive and oxygenative agent. Its diagnostic indications of the pulmonary vascular reactivity and/or gas diffusion capacity status of the patient provide a new path which should be enthusiastically explored. Moreover, exhaled NO may be useful as marker for asthma or inflammation evolution. In other pathologies such as acute lung injury, it seems more appropriate to classify inhNO as an adjuvant therapy than as a miracle drug, and its potential preventive role in development of acute lung injury is really promising but also needs to be fully elucidated.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge Dr Guy Czaika, PhD, and Dr Neil G. Hartman, PhD, for their careful reading and constructive editing comments on the text. The laboratory of anaesthesia is supported by grants from the Medical Research Council of Canada. Dr Éric Troncy is a PhD scholar in the biomedical sciences of Université de Montréal and the recipient of grants from Faculté des Études Supérieures of Université de Montréal, Rhône-Alpes region (France) Eurodoc program, and Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche in France.

References

- 1 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
- 2 Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6: 3051-64.
- 3 Frostell CG, Blomqvist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM. Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 1993; 78: 427-35.
- 4 Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; 338: 1173-4.
- 5 Stoclet JC. The L-arginine-NO pathway and cyclic GMP in the vessel wall. *Z Kardiol* 1991; 80: 87-90.

- 6 Goy MF. cGMP: the wayward child of the cyclic nucleotide family. *Trends Neurosci* 1991; 74: 293-9.
- 7 Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS. S-nitrosohæmoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996; 380: 221-6.
- 8 Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ, *et al.* Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9: 371-7.
- 9 Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Knorr M, Falke KJ. Autoinhalation of nitric oxide after endogenous synthesis in nasopharynx. *Lancet* 1994; 343: 518-9.
- 10 Giaid A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995; 333: 214-21.
- 11 Barberà JA, Roger N, Roca J, Rovira I, Higebottam TW, Rodriguez-Roisin R. Worsening of pulmonary gas exchange with nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 1996; 347: 436-40.
- 12 Channick RN, Hoch RC, Newhart JW, Johnson FW, Smith CM. Improvement in pulmonary hypertension and hypoxemia during nitric oxide inhalation in a patient with end-stage pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 811-4.
- 13 Rossaint R, Falke KJ, López FA, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399-405.
- 14 Gerlach H, Rossaint R, Pappert D, Falke KJ. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 499-502.
- 15 Lowson SM, Rich GF, McArdle PA, Jaidev J, Morris GN. The response to varying concentrations of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesth Analg* 1996; 82: 574-81.
- 16 Roberts JD, Polaner DM, Lang P, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992; 340: 818-9.
- 17 Rich GF, Murphy GD Jr, Roos CM, Johns RA. Inhaled nitric oxide. Selective pulmonary vasodilation in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 1993; 78: 1028-35.
- 18 Bigatello LM, Hurford WE, Kacmarek RM, Roberts JD Jr, Zapol WM. Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1994; 80: 761-70.
- 19 Ichinose F, Adrie C, Hurford WE, Zapol WM. Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by zaprinast in awake lambs. *J Appl Physiol* 1995; 78: 1288-95.
- 20 Kinsella JP, Torielli F, Ziegler JW, Ivy DD, Abman SH. Dipyridamole augmentation of response to nitric oxide (Letter). *Lancet* 1995; 346: 647-8.
- 21 Puybasset L, Rouby J-J, Mourgeon E, *et al.* Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 318-28.
- 22 Henriksen T, Goldman AP, Macrae DJ. Inhaled nitric oxide can cause severe systemic hypotension (Letter). *J Pediatrics* 1996; 129: 183.
- 23 Payen DM, Gatecel C, Plaisance P. Almitrine effect on nitric oxide inhalation in adult respiratory distress syndrome (Letter). *Lancet* 1993; 341: 1664.
- 24 Germann P, Pöschl G, Balassa A, *et al.* Additional benefit of combined nitric oxide inhalational and gravitational therapy in patients with isolated ARDS. *Anesthesiology* 1994; 81: A266.
- 25 Tsao PS, Lewis NP, Alpert S, Cooke JP. Exposure to shear stress alters endothelial adhesiveness. Role of nitric oxide. *Circulation* 1995; 92: 3513-9.
- 26 Van Dervort AL, Yan L, Madara PJ, *et al.* Nitric oxide regulates endotoxin-induced TNF- α production by human neutrophils. *J Immunol* 1994; 152: 4102-9.
- 27 Taylor-Robinson AW, Liew FY, Severn A, *et al.* Regulation of the immune response by nitric oxide differentially produced by T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol* 1994; 24: 980-4.
- 28 Racke K, Brunn G, Hey C, Westler I. Endogenous nitric oxide (NO) suppresses phospholipase A₂ - lipoxygenase pathway in rat alveolar macrophages. *In: Moncada S, Stamler J, Gross S, Higgs EA (Eds.). The Biology of Nitric Oxide - Part 5.* London: Portland Press, 1996: 110.
- 29 Maulik N, Engelman DT, Watanabe M, *et al.* Nitric oxide/carbon monoxide. A molecular switch for myocardial preservation during ischemia. *Circulation* 1996; 94[Suppl.II]: II398-406.
- 30 Beckman JS. The physiological and pathological chemistry of nitric oxide. *In: Lancaster J Jr (Ed.). Nitric Oxide: Principles and Actions.* San Diego: Academic Press, 1996: 1-82.
- 31 Kubes P, Granger DN. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol* 1992; 262: H611-5.
- 32 Suttorp N, Hippenstiel S, Fuhrmann M, Krüll M, Podzuweit T. Role of nitric oxide and phosphodiesterase isoenzyme II for reduction of endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol* 1996; 270: C778-85.
- 33 Belvisi M, Barnes PJ, Larkin S, *et al.* Nitric oxide synthase activity is elevated in inflammatory lung disease in humans. *Eur J Pharmacol* 1995; 283: 255-8.
- 34 Estrada C, Gómez C, Martín C, Moncada S, González C. Nitric oxide mediates tumor necrosis factor- α cytotoxicity in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186: 475-82.
- 35 Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines

- on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992; 257: 387-9.
- Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1991; 288: 481-7.
- Noronha-Dutra AA, Epperlein MM, Woolf N. Reaction of nitric oxide with hydrogen peroxide to produce potentially cytotoxic singlet oxygen as a model for nitric oxide-mediated killing. *FEBS* 1993; 321: 59-62.
- Benzing A, Geiger K. Inhaled nitric oxide lowers pulmonary capillary pressure and changes longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance in patients with acute lung injury. *Acta Anaesthesiol Scand* 1994; 38: 640-5.
- Chollet-Martin S, Gatecel C, Kermarrec N, Gougerot-Pocidalo M-A, Payen DM. Alveolar neutrophil functions and cytokine levels in patients with the adult respiratory distress syndrome during nitric oxide inhalation. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 985-90.
- Garat C, Adnot S, Rezaiguia S, Meignan S, Jayr C. Effect of inhaled nitric oxide on 100% oxygen induced lung injury in intact rats. *Anesthesiology* 1994; 81: A1455.
- Van Obbergh LJ, Charbonneau M, Blaise G. Combination of inhaled nitric oxide with i.v. nitroglycerin or with a prostacyclin analogue in the treatment of experimental pulmonary hypertension. *Br J Anaesth* 1996; 77: 227-31.
- Malmros C, Blomquist S, Dahm P, Mårtensson L, Thörne J. Nitric oxide inhalation decreases pulmonary platelet and neutrophil sequestration during extracorporeal circulation in the pig. *Crit Care Med* 1996; 24: 845-9.
- Samama CM, Diaby M, Fellahi J-L, et al. Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1995; 83: 56-65.
- Friese RS, Fullerton DA, McIntyre RC Jr, et al. NO prevents neutrophil-mediated pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury. *J Surg Res* 1996; 63: 23-8.
- Stamler JS, Jaraki O, Osborne J, et al. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7674-7.
- Troncy E, Jacob E, Peres da Silva E, et al. Comparison of the effect of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerine on hypoxia-induced pulmonary hypertension in pigs. *Eur J Anaesthesiol* 1996; 13: 521-9.
- Kelly RA, Balligand J-L, Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res* 1996; 79: 363-80.
- Shah NS, Nakayama DK, Jacob TD, et al. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Arch Surg* 1994; 129: 158-64.
- 49 Albert J, Wallén NH, Brøijersén A, Frostell C, Hjemdahl P. Effects of inhaled nitric oxide compared with aspirin on platelet function *in vivo* in healthy subjects. *Clin Sci* 1996; 91: 225-31.
- 50 Troncy E, Francœur M, Salazkin I, Vinay P, Blaise GA. Systemic effect of inhaled nitric oxide: modification of renal hemodynamics in pigs. In: Moncada S, Stamler J, Gross S, Higgs EA (Eds.). *The Biology of Nitric Oxide - Part 5*. London: Portland Press, 1996: 319.
- 51 McQueston JA, Kinsella JP, Ivy DD, McMurtry IF, Abman SH. Chronic pulmonary hypertension *in utero* impairs endothelium-dependent vasodilation. *Am J Physiol* 1995; 268: H288-94.
- 52 Kinsella JP, Neish SR, Ivy DD, Shaffer E, Abman SH. Clinical responses to prolonged treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn with low doses of inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 1993; 123: 103-8.
- 53 Okamoto K, Sato T, Kurose M, Kukita I, Fujii H, Taki K. Successful use of inhaled nitric oxide for treatment of severe hypoxemia in an infant with total anomalous pulmonary venous return. *Anesthesiology* 1994; 81: 256-9.
- 54 Haydar A, Malhère T, Mauriat P, et al. Inhaled nitric oxide for postoperative pulmonary hypertension in patients with congenital heart defects (Letter). *Lancet* 1992; 340: 1545.
- 55 Mertes PM, Pinelli G, Hubert T, et al. Impact of nitric oxide inhalation on right ventricular failure after implantation of Novacor left ventricular assist system. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109: 1251.
- 56 Gries A, Motsch J, Böttiger B, Mieck U, Bode C, Dörsam J. Inhaled nitric oxide reduces platelet activation in acute pulmonary embolism in pigs. *Br J Anaesth* 1995; 74[Suppl.II]: (A412).
- 57 Sitbon O, Brenot F, Denjean A, et al. Inhaled nitric oxide as a screening vasodilator agent in primary pulmonary hypertension. A dose-response study and comparison with prostacyclin. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 384-9.
- 58 Adnot S, Kouyoumdjian C, Defouilloy C, et al. Hemodynamic and gas exchange responses to infusion of acetylcholine and inhalation of nitric oxide in patients with chronic obstructive lung disease and pulmonary hypertension. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 310-6.
- 59 Dupuy PM, Shore SA, Drazen JM, Frostell C, Hill WA, Zapol WM. Bronchodilator action of inhaled nitric oxide in guinea pigs. *J Clin Invest* 1992; 90: 421-8.
- 60 Sanna A, Kurtansky A, Veriter C, Stănescu D. Bronchodilator effect of inhaled nitric oxide in healthy men. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1702-4.
- 61 Högman M, Frostell CG, Hedenström H, Hedenstierna G. Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1474-8.

- 62 Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 1967; 2: 319–23.
- 63 Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, *et al.* The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 818–24.
- 64 Petros AJ, Marshall JC, van Saene HKF. Should morbidity replace mortality as an endpoint for clinical trials in intensive care? *Lancet* 1995; 345: 986–7.
- 65 Rossaint R, Slama K, Steudel W, *et al.* Effects of inhaled nitric oxide on right ventricular function in severe acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1995; 21: 197–203.
- 66 Fierobe L, Brunet F, Dhainaut J-F, *et al.* Effect of inhaled nitric oxide on right ventricular function in adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1414–9.
- 67 Wenstone R, Wilkes RG. Clinical management of ARDS (Editorial). *Br J Anaesth* 1994; 72: 617–9.
- 68 McIntyre RC Jr, Moore FA, Moore EE, Piedalue F, Haenel JS, Fullerton DA. Inhaled nitric oxide variably improves oxygenation and pulmonary hypertension in patients with acute respiratory distress syndrome. *J Trauma* 1995; 39: 418–25.
- 69 Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 720–3.
- 70 Puybasset L, Rouby JJ, Mourgeon E, *et al.* Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure: dose-response curves. *Intensive Care Med* 1994; 20: 319–27.
- 71 Walmrath D, Schneider T, Schermuly R, Olschewski H, Grimminger F, Seeger W. Direct comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized prostacyclin in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 991–6.
- 72 Blaise G, Charneau S, Francaeur M, *et al.* Inhaled NO and ARDS: effect on oxygenation, systemic and pulmonary hemodynamics and on mortality. *Can J Anaesth* 1995; 42[Suppl.II]: A65 A.
- 73 Rossaint R, Gerlach H, Schmidt-Ruhnke H, *et al.* Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 1995; 107: 1107–15.
- 74 Wysocki M, Delclaux C, Roupie E, *et al.* Additive effect on gas exchange of inhaled nitric oxide and intravenous almitrine bismesylate in the adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1994; 20: 254–9.
- 75 Lu Q, Mourgeon E, Law-Koune JD, *et al.* Dose-response curves of inhaled nitric oxide with and without intravenous almitrine in nitric oxide-responding patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1995; 83: 929–43.
- 76 Young JD, Brampton WJ, Knighton JD, Finfer SR. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br J Anaesth* 1994; 73: 499–502.
- 77 Puybasset L, Stewart T, Rouby J-J, *et al.* Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1994; 80: 1254–67.
- 78 Gerlach H, Pappert D, Lewandowski K, Rossaint R, Falke KJ. Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1993; 19: 443–9.
- 79 Levy B, Bollaert P-E, Bauer P, Nace L, Audibert G, Larcan A. Therapeutic optimization including inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome in a polyvalent intensive care unit. *J Trauma* 1995; 38: 370–4.
- 80 Wysocki M, Vignon Ph, Roupie E, *et al.* Improvement in right ventricular function with inhaled nitric oxide in patients with the adult respiratory distress syndrome (ARDS) and permissive hypercapnia. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: A350.
- 81 Mira JP, Monchi M, Brunet F, Fierobe L, Dhainaut JF, Dinh-Xuan AT. Lack of efficacy of inhaled nitric oxide in ARDS (Letter). *Intensive Care Med* 1994; 7: 532.
- 82 Levy B, Bollaert PE, Larcan A. Inhaled nitric oxide is often efficient in severe ARDS (Letter). *Intensive Care Med* 1995; 21: 864.
- 83 Ricou B, Suter PM. Variable effects of nitric oxide (NO) in ARDS patients. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: A350.
- 84 Monchi M, Fierobe L, Mira JP, *et al.* Predictive factors of inhaled nitric oxide inefficiency in ARDS patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: A423.
- 85 Roupie E, Wysocki M, Langeron O, *et al.* Effects of inhaled nitric oxide (NO^o) on oxygenation and hemodynamic parameters in the acute respiratory distress syndrome (ARDS). Responders *versus* non responders? *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: A424.
- 86 Steltzer H, Fridrich P, Koc D, Hiesmayr M, Krafft P, Hammerle AF. Prolonged inhalation of nitric oxide in patients with septic acute respiratory distress syndrome (ARDS): effects on hemodynamics and oxygenation in responders and non-responders. *Br J Anaesth* 1995; 74[Suppl.II]: 124 (A410).
- 87 Krafft P, Fridrich P, Fitzgerald RD, Koc D, Steltzer H. Effectiveness of nitric oxide inhalation in septic ARDS. *Chest* 1996; 109: 486–93.
- 88 Miller OI, Tang SF, Keech A, Celermajer DS. Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide (Letter). *Lancet* 1995; 346: 51–2.

- 39 *Adatia I, Perry S, Landzberg M, Moore P, Thompson JE, Wessel DL.* Inhaled nitric oxide and hemodynamic evaluation of patients with pulmonary hypertension before transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1656-64.
- 90 *Semigran MJ, Cockrill BA, Kacmarek R, et al.* Hemodynamic effects of inhaled nitric oxide in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 982-8.
- 91 *Borland CDR, Higenbottam TW.* A simultaneous single breath measurement of pulmonary diffusing capacity with nitric oxide and carbon monoxide. *Eur Respir J* 1989; 2: 56-63.
- 92 *Persson MG, Wiklund NP, Gustafsson LE.* Endogenous nitric oxide in single exhalations and the change during exercise. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1210-4.
- 93 *Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ.* Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Resp J* 1995; 8: 295-7.
- 94 *Lundberg JON, Rinder J, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K.* Nasally exhaled nitric oxide in humans originates mainly in the paranasal sinuses. *Acta Physiol Scand* 1994; 152: 431-2.
- 95 *Frawley JP, Calandra JE, Fredrick WG, et al.* Emergency exposure limits - Statement of general principles - Nitrogen dioxide. *Industrial Hygiene Journal* 1964; 25: 578-82.
- 96 *Szabó C.* The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 1996; 6: 79-88.
- 97 *Dickstein ML, Burkhoff D.* A theoretic analysis of the effect of pulmonary vasodilation on pulmonary venous pressure: implications for inhaled nitric oxide therapy. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15: 715-21.
- 98 *Wessel DL, Adatia I, Thompson JE, Hickey PR.* Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide in patients with pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 1994; 22: 930-8.
- 99 *Dyar O, Young JD, Xiong L, Howell S, Johns E.* Dose-response relationship for inhaled nitric oxide in experimental pulmonary hypertension in sheep. *Br J Anaesth* 1993; 71: 702-8.
- 00 *Frostell C.* Nitric oxide inhalation - future drug or an invitation to disaster? *Pediatr Anaesth* 1994; 4: 147-50.

Chapitre 5

ÉTUDES EXPÉRIMENTALES

6.0 Études expérimentales animales.

6.1 Comparaison des effets du monoxyde d'azote inhalé et de la nitroglycérine intraveineuse dans un modèle d'hypertension pulmonaire induite par l'hypoxie chez le Porc.

Le but de cette étude était de reproduire un modèle d'hypertension pulmonaire hypoxique et son traitement par le NO inhalé chez une espèce, le Porc, qui n'avait pas encore fait l'objet de travaux dans ces conditions au contraire de l'Agneau,⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾ du Mouton,^(47, 48) du Chien,⁽⁴⁹⁻⁵³⁾ du Porcelet nouveau-né,⁽⁵⁴⁻⁵⁷⁾ du Cochon miniature,⁽⁵²⁾ du Veau⁽⁵⁸⁾ ou de l'Homme.⁽⁵⁹⁾ Le choix du Porc adulte était motivé par son analogie marquée avec l'Homme sur le plan de la physiologie et de la pharmacologie cardio-respiratoire.⁽⁶⁰⁾

Notre hypothèse était de confirmer les résultats obtenus avec les autres espèces du caractère vasodilatateur pulmonaire sélectif du NO inhalé et de montrer ses avantages par rapport à l'injection intraveineuse d'un vasodilatateur nitré, la nitroglycérine, et ce en les comparant systématiquement sur différents paramètres hémodynamiques (pulmonaire et systémique) et respiratoires (ventilation et échanges gazeux) à partir d'un point de départ commun, à savoir un effet anti-hypertenseur pulmonaire similaire pour les deux thérapies.

Comparison of the effect of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerine on hypoxia-induced pulmonary hypertension in pigs 79

E. Troncy, E. Jacob, E. Peres da Silva, T. Ducruet, J.-P. Collet, I. Salazkin, M. Charbonneau and G. Blaise

Department of Anaesthesiology, Hôpital Notre-Dame, Université de Montréal, 1560 Sherbrooke Street East, Montreal, Quebec, Canada

Eric Troncy *et al.* (1996) *European Journal of Anaesthesiology*, 13, 521-529

Comparison of the effect of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerine on hypoxia-induced pulmonary hypertension in pigs

Summary

Pulmonary hypertension is usually treated with intravenous (i.v.) vasodilators, but their use is limited by systemic effects. In the current study, we compared the effects of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerine on pulmonary and systemic haemodynamic responses as well as on gas exchange measurements in anaesthetized pigs whose pulmonary pressure was increased by hypoxia ($\text{FiO}_2 = 15\%$). Both treatments reduced pulmonary pressure to the control level. Inhaled nitric oxide did not affect systemic arterial pressure but intravenous nitroglycerine decreased it from 126.2 to 108.8 mmHg ($P=0.04$). Unlike

intravenous nitroglycerine, inhaled nitric oxide increased arterial PaO_2 from 5.3 to 5.9 kPa ($P=0.02$). Both treatments diminished central venous pressure and left atrial pressure, suggesting a possible cardiac effect. Inhaled nitric oxide was shown to be a potent pulmonary vasodilator which attenuated pulmonary hypertension and improved arterial oxygenation without important direct effects on systemic pressure in porcine hypoxia-induced pulmonary hypertension.

Keywords: nitric oxide, nitroglycerine, pulmonary hypertension, systemic arterial pressure, cardiac effect, pig.

Introduction

Pulmonary hypertension is a serious clinical problem following cardiac surgery [1]. It may induce right ventricular dilatation and cardiac failure with subsequent problems when withdrawing from extracorporeal circulation. Pulmonary hypertension, a disease which can not be easily controlled pharmacologically, is still an important cause of morbidity and mortality in man [2,3]. Intravenous vasodilators are very efficient in reducing pulmonary pressure but their use is limited by their side effects: systemic hypotension, hypoxaemia (because of the reversal of hypoxic pulmonary vasoconstriction), decrease in coronary perfusion and possibly heart failure [4,5].

Nitric oxide (NO) is an endogenous vasodilator which is produced *in vivo* by several different cells in the body [6,7]. In the pulmonary circulation, NO is one of the mediators responsible for a low pulmonary vascular resistance. NO inhibits the pulmonary vascular response to vasoconstrictors and hypoxia [8]. Moreover, during exercise, the increase in shear stress from increased flow enhances NO production in the pulmonary circulation and maintains pulmonary resistance at low levels [9].

NO is a free radical with a very short half life that binds with a very high affinity to the haem moiety of haemoglobin which is therefore a NO scavenger. Therefore, unlike the i.v. nitrovasodilators, the vasodilatory effect of inhaled NO is limited to the lung [10,11].

In animals, inhaled NO (5-80 parts per million -

Accepted January 1996

Correspondence: Gilbert Blaise.

p.p.m.) reversed pulmonary hypertension induced by hypoxia [12–14], thromboxane-mimetic infusion [14,15], heparin–protamine interactions [11], or endotoxaemia [16,17]. In humans, NO is also a pulmonary vasodilator in pulmonary hypertension induced by hypoxia [18], chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) [19], adult respiratory distress syndrome (ARDS) [20], persistent pulmonary hypertension of the newborn (PPHN) [21], and after cardiac surgery [22,23].

Pig is often chosen as a model for the study of the cardiopulmonary function *in vitro* [24,25] or *in vivo* [17, 26]. The magnitude of the hypoxic pulmonary vasoconstriction varies greatly between and within species [27]. Inhaled NO and hypoxic pulmonary hypertension has not been studied in pigs. So, it is of interest to evaluate in this model the same nitrenergic (molecule of NO) treatment administered in two ways, i.v., and inhaled. The use of a swine valid hypoxia model will confirm the results found in other species and will allow more detailed study of the mechanisms of action of nitrenergic treatments for pulmonary diseases such as hypertension or inflammatory processes (ARDS).

The purpose of this project was to compare the respective effects of inhaled NO and i.v. nitroglycerine (NTG) on pulmonary and systemic haemodynamic parameters as well as on gas exchange in a hypoxia-induced pulmonary hypertension anaesthetized pigs model. The hypothesis was that in pigs as in other animals inhaled NO, in relation to its pulmonary selectivity, produces less side effects than i.v. NTG in the treatment of hypoxic pulmonary hypertension.

Methods

Animals

This research project was approved by the Institutional Research and Animal Welfare committee. All animals were treated according to the Canadian Council on Animal Care guidelines. Fourteen female pigs, weighing from 20 to 25 kg, were used in this randomized study and the nature of treatment distinguished two groups: inhaled NO or i.v. NTG.

Instrumentation

The pigs were premedicated with i.m. ketamine (15 mg

kg⁻¹). After a bolus of fentanyl (5 µg kg⁻¹ i.v.) and pentobarbital (6.5 mg kg⁻¹ i.v.), a tracheostomy was performed and volume-controlled ventilation was initiated (Ventilator 7200ae™, Puritan-Bennett, Carlsbad, Ca, USA). Tidal volume was set at 15 mL kg⁻¹ and frequency was adjusted to maintain PaCO₂ between 5.0 and 6.5 kPa (Blood gases analyser IL 1620™, Coulter Électronique du Canada Ltée., Ville St Laurent, Canada). Initial FiO₂ was fixed at 30% and monitored with an oxygen analyser (Oxygen monitor 5590™, Hudson RCI, Temecula, Ca, USA). Anaesthesia was maintained with a continuous infusion of fentanyl (3.8 µg kg⁻¹ h⁻¹) and pentobarbital (9.8 mg kg⁻¹ h⁻¹). Muscle relaxation was achieved by a mixture of d-tubocurarine (0.22 mg kg⁻¹ h⁻¹) and pancuronium (0.15 mg kg⁻¹ h⁻¹). Lactated Ringer's solution was infused at 15 mL kg⁻¹ h⁻¹ as a standard for maintenance needs during open-chest surgery [28].

After instrumentation with the electrocardiographic leads, an arterial pressure line (carotid artery), venous infusion lines (external jugular vein, auricular vein), a pulmonary artery thermodilution catheter (5 French Swan Ganz catheter in the internal jugular vein) for cardiac output (5 mL of cold normal saline in triplicate) and central venous pressure monitoring, were inserted. Then, a median sternotomy was performed, the pericardium was opened and two catheters (12-gauge) inserted into the main pulmonary artery and into the left atrium appendage. These were placed for respective pressure monitoring and for arterial and venous blood sampling. The pericardium and the chest wall were carefully closed with suture and metallic wires. An urinary catheter was installed and rectal temperature was monitored.

Experimental design

After the initial preparation, the study was delayed until a stable physiological status was obtained. The several pressures and blood gas values were maintained within the physiological ranges by adjusting the saline infusion or the ventilator parameters. The experimental protocol was divided into four stages of 20 min each: (a) base-line measurement, (b) induction of pulmonary hypertension by hypoxia (FiO₂ = 15%), (c) intervention to treat pulmonary hypertension by inhalation of NO 40 p.p.m. (from our preliminary data, this concentration had the maximal effect on hypoxic pulmonary vasoconstriction in this model, i.e. return

of the pulmonary pressure to its initial value) or a perfusion of NTG, and (d) recovery (both the hypertensive stimulus and the treatment were discontinued).

A mixture of 972 p.p.m. NO-N₂ (Air Liquide Canada, Montreal, Canada) was directly injected into the inspiratory line of the ventilator circuit with a system developed in this institution [29]. In this system, NO injection is cyclic, occurring only during the inspiratory phase of the mechanical ventilator with opening of a solenoid valve triggered by an electronic circuit. The flow was manually adjusted using a precision flowmeter (Cole-Parmer, Niles, IL, USA). The concentrations of NO and nitrogen oxides (NO_x) were continuously monitored using a chemiluminescence analyser (CLD 700 AL NO/NO_x analyser™, Ecophysics Tecan AG, Dürten, Switzerland). In pigs treated with i.v. NTG, the dose was started at 1 µg kg⁻¹ min⁻¹ and progressively increased until return of pulmonary pressure to baseline level.

The following measurements were recorded every 5 min in each period: systolic pulmonary arterial pressure (SPAP), heart rate (HR), cardiac output (CO), systolic systemic arterial pressure (SAP), left atrial pressure (LAP), and central venous pressure (CVP). Arterial and mixed venous blood gas variables were measured once at the end of each 20 min period.

Statistical analysis

Seven animals were treated with inhaled NO and seven with i.v. NTG. The statistical analyses were performed with the SAS statistical analysis program. All data and figures are presented as median (and range) for each variable in each stage (1–4) for both groups (inhaled NO or i.v. NTG).

Because of the small sample size, the non-Gaussian distribution of the data, and the hypothesis to be tested (i.e. the comparison of inhaled NO and i.v. NTG treatments of hypoxic pulmonary hypertension in pigs), a univariate non-parametric procedure was used.

The Wilcoxon Rank Sum test for Independent Samples compared the values of each variable during one stage between the two groups of pigs (i.e. comparison of the variation between groups; $\alpha=0.05$), and the difference between stages 3 (treatment) and 2 (hypoxia) between the two groups of pigs (i.e. com-

parison of the difference (3–2) between groups; $P1<0.05$, Tables 1 and 2).

The Sign Rank Sum test compared the value of two successive stages in the same group of pigs undergoing the same treatment (i.e. comparison of the difference within groups, and particularly the difference (3–2) within groups; $P2<0.05$; Tables 1 and 2).

Results

The stage by stage within groups comparison showed that hypoxia significantly increased SPAP from 24 to 35.5 mmHg in the inhaled NO group ($P=0.001$) and from 23 to 36.2 mmHg in the i.v. NTG group ($P=0.003$) (Fig. 1). Hypoxia had no or minimal effects on HR and CO while, with the pooled group ($n=14$), the difference was not statistically significant ($P=0.34$ and $P=0.43$, respectively). The other haemodynamic variables did not change.

Hypoxia induced a significant reduction in arterial partial pressure of oxygen (PaO₂; pooled group: $P=0.0001$) (Fig. 2), mixed venous oxygenation (PvO₂; pooled group: $P=0.001$) and arterial and venous haemoglobin saturations, but did not affect arterial pH (pooled group: $P=0.52$) or arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂; pooled group: $P=0.73$).

Figure 1 shows also the effects of inhaled NO and i.v. NTG on pulmonary hypertension induced by hypoxia. Both interventions reduced pulmonary hypertension to the same extent: by 31.3% (from 35.5 to 23 mmHg) in the inhaled NO group; and by 27.2% (from 36.2 to 24.7 mmHg) in the i.v. NTG group (Table 1). The difference (3–2) within group was statistically significant in the inhaled NO group ($P2=0.01$), and in the i.v. NTG group ($P2=0.04$). The comparison of the difference (3–2) between groups was not significant ($P1=0.3$). Neither inhaled NO nor i.v. NTG had a significant effect on HR and CO (Table 1).

Figure 3 shows the effects of inhaled NO and i.v. NTG on SAP. While the two interventions had a similar effect on SPAP, they differed considerably with regard to their effect on SAP (Table 1). Inhaled NO did not change SAP, from 119.3 (stage 2) to 117 mmHg (stage 3) (–2.1%; $P2=0.11$), while i.v. NTG decreased SAP from 126.2 to 108.8 mmHg (–12.8%; $P2=0.04$). The comparison of the difference (3–2) between groups was found to be significant for SAP ($P1=0.01$).

Table 1. Hypoxia and its treatment by inhaled NO or i.v. NTG on pulmonary and systemic haemodynamic variables (median and range values) in anaesthetized pigs **82**

		Hypoxia	Treatment	(3-2) (%)	P2
SPAP (mmHg)	NO	35.5 (12.5)	23 (10)	-31.3 (24.2)	0.01*
	NTG	36.2 (15)	24.7 (19)	-27.2 (38.6)	0.04*
	P1			0.3	
HR (b.p.m.)	NO	151 (24)	145.5 (23.5)	+0.99 (22)	0.58
	NTG	141.3 (49)	152.1 (24.3)	+4.9 (27)	0.09
	P1			0.1	
CO (l.p.m.)	NO	2.8 (2.05)	2.5 (1.6)	+3.2 (27.3)	1
	NTG	2.8 (0.6)	2.7 (1)	+0.9 (32.3)	0.7
	P1			0.45	
SAP (mmHg)	NO	119.3 (54.2)	117 (58)	-2.1 (12.3)	0.11
	NTG	126.2 (36)	108.8 (59.5)	-12.8 (28.5)	0.04*
	P1			0.01*	
LAP (mmHg)	NO	7.5 (6.75)	6.75 (5.75)	-8.9 (28.9)	0.03*
	NTG	7.1 (5)	5.75 (10)	-12.3 (29.3)	0.049*
	P1			0.53	
CVP (mmHg)	NO	5 (4.75)	4.75 (6.25)	-7.7 (35)	0.03*
	NTG	5.5 (4.25)	4.55 (5.8)	-13.6 (39.2)	0.04*
	P1			0.75	

(3-2): median (and range) value of the variation in percentage between stages 3 (treatment) and 2 (hypoxia).

P1: P-value of the Wilcoxon Rank Sum test for Independent Samples for comparison of the difference (3-2) between groups.

P2: P-value of the Sign Rank Sum test for comparison of the difference (3-2) within groups.

* P-value <0.05.

Inhaled NO decreased LAP from 7.5 to 6.75 mmHg (-8.9%; $P_2=0.03$) and CVP from 5 to 4.75 mmHg (-7.7%; $P_2=0.03$). Intravenous NTG showed similar effects on these variables: decreases of LAP from 7.1 to 5.75 mmHg (-12.3%; $P_2=0.05$), and of CVP from 5.5 to 4.55 mmHg (-13.6%; $P_2=0.04$).

The comparison of the difference (3-2) between groups on the gas exchange variables was never significant ($P_1>0.05$; Table 2). However, in the within groups comparison, if NTG i.v. did not affect oxygenation, inhaled NO improved PaO₂ from 5.25 to 5.9 kPa (+15.6%; $P_2=0.02$; Table 2, Fig. 2).

Discussion

NO produced by the endothelial cells controls vascular tone, arterial blood pressure, blood flow distribution, platelet and leukocyte activation and smooth muscle cell growth [30,31]. NO, or a molecule containing NO [32], corresponds with the Endothelium-Derived Relaxing Factor (EDRF) discovered in 1980 by Fur-

chgott and Zawadzki [33]. Its binding to the haem moiety of the soluble guanylyl cyclase stimulates the enzyme, leading to an increase in intracellular cyclic guanosine 3', 5' monophosphate (cGMP) levels. Cyclic GMP activates cGMP dependent protein kinase which phosphorylates myosin light chain kinase and Ca²⁺ transporters, causing stabilization of the inactive form of myosin and complexation of intracellular Ca²⁺, supporting smooth muscle relaxation [34,35]. Intravenous nitrovasodilators such as sodium nitroprusside and NTG also activate guanylyl cyclase, as NO is the active moiety in their molecule. They release their NO into both the pulmonary and systemic circulations, so that systemic side effects accompany the pulmonary vasodilation [5,36-38].

In anaesthetized pigs, hypoxia induced pulmonary hypertension, which is mainly because of hypoxic pulmonary vasoconstriction [13,14,37], and affected the gas exchange variables. The other haemodynamic variables did not change with hypoxia in this pig-model. In other species, it has been shown that hypoxia had systemic effects (on SAP or systemic vas-

Table 2. Hypoxia and its treatment by inhaled NO and i.v. NTG on gas exchange variables (median and range values) in anaesthetized pigs 83

		Hypoxia	Treatment	(3-2) (%)	P2
PaO ₂ (kPa)	NO	5.3 (3.0)	5.9 (3.2)	+15.6 (32)	0.02*
	NTG	5.8 (1.3)	5.8 (2.0)	+0.2 (27)	0.87
	P1			0.09	
Arterial Hb sat (%)	NO	75.8 (45.5)	78.5 (34.5)	+3.5 (24)	0.36*
	NTG	76.2 (19.4)	74.2 (29.6)	-3.2 (23)	0.73
	P1			0.35	
PvO ₂ (kPa)	NO	2.8 (2.6)	2.8 (1.5)	+5.9 (42)	0.3
	NTG	2.7 (1.5)	2.6 (1.3)	-1.5 (41)	0.1
	P1			0.22	
Venous Hb sat (%)	NO	35.8 (48.6)	36.7 (34.9)	+7.8 (51)	0.3
	NTG	30.1 (40.8)	28.2 (38.8)	-1.2 (43)	0.72
	P1			0.43	
Arterial pH	NO	7.43 (0.15)	7.45 (0.19)	+0.01 (2.2)	0.58
	NTG	7.41 (0.19)	7.4 (0.28)	-0.1 (0.5)	0.26
	P1			0.2	
PaCO ₂ (kPa)	NO	5.6 (4.2)	5.1 (2.9)	+5.6 (49)	1
	NTG	5.0 (1.8)	4.8 (3.9)	-4 (37.9)	0.7
	P1			0.7	

(3-2): median (and range) value of the variation in percentage between stages 3 (treatment) and 2 (hypoxia).

P1: P-value of the Wilcoxon Rank Sum test for Independent Samples for comparison of the difference (3-2) between groups.

P2: P-value of the Sign Rank Sum test for comparison of the difference (3-2) within groups.

* P-value <0.05.

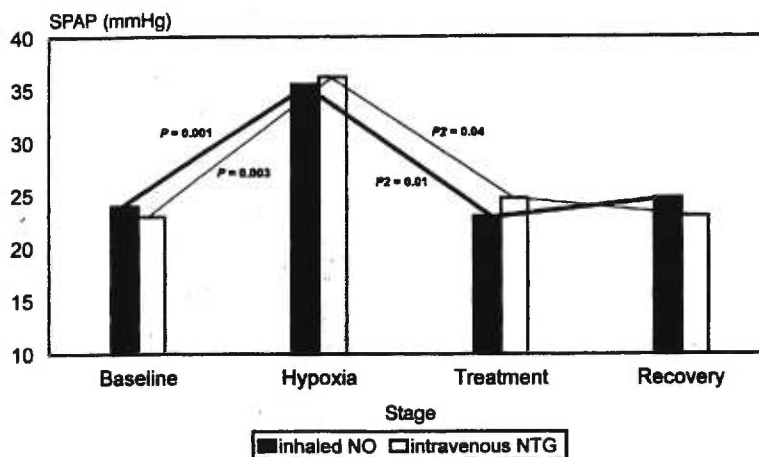


Fig. 1. Variation in systolic pulmonary artery pressure (SPAP) median values. The median values of SPAP for each period (base-line, hypoxic pulmonary hypertension, nitrgenic treatment, recovery) for both groups (inhaled NO, $n=7$, thick line; i.v. NTG, $n=7$, thin line) are shown. Hypoxia-induced pulmonary hypertension ($P=0.001$ in the inhaled NO group; $P=0.003$ in the i.v. NTG group, with comparison of the hypoxia values with the base-line values) was reversed with inhaled NO ($P2=0.01$) and with i.v. NTG ($P2=0.04$).

cular resistance [12,13], HR [12,18] and CO [12,13,18]) and influenced pulmonary circulation (on SPAP and pulmonary vascular resistance [12,13]) and function [12,13,18]. In the model reported here, anaes-

thesia-related attenuation of the hypoxia-induced catecholamines release may have minimized the cardiac response to hypoxia [39].

Pigs and dogs are two species known to present with

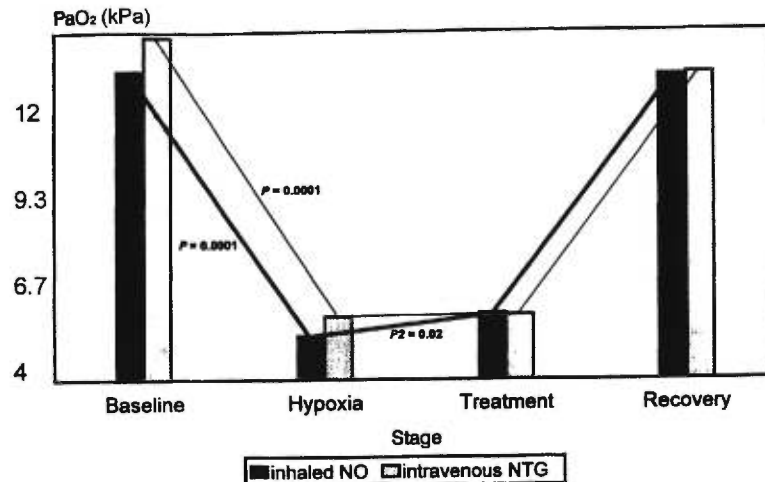


Fig. 2. Variation in arterial partial pressure of oxygen (PaO_2) median values. The median values of PaO_2 for each period (base-line, hypoxic pulmonary hypertension, recovery) for both groups (inhaled NO, $n=7$, thick line; i.v. NTG, $n=7$, thin line) are shown. A 15% FiO_2 induced hypoxaemia ($P=0.0001$ in the pooled group with comparison of the hypoxia values to the base-line values). Intravenous NTG had no effect on PaO_2 (6.3 vs. 6.27 kPa, $P2=1$). Inhaled NO increased PaO_2 by 15.6% ($P2=0.02$).

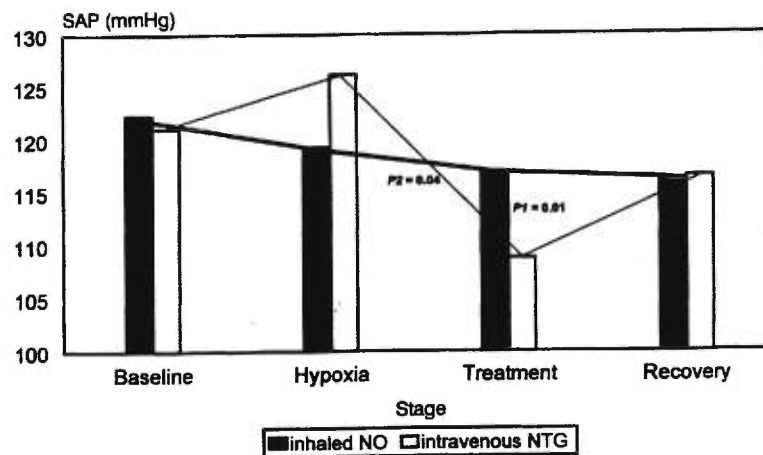


Fig. 3. Variation in systolic systemic arterial pressure (SAP) median values. The median values of SAP for each period (base-line, hypoxic pulmonary hypertension, nitrgic treatment, recovery) for both groups (inhaled NO, $n=7$, thick line; i.v. NTG, $n=7$, thin line) are shown. Inhaled NO had no significant effect on SAP (-1.9% , $P2=0.11$). Intravenous NTG decreased SAP by 12.8% ($P2=0.04$). The comparison of the treatment between groups was significant ($P1=0.01$).

strong and weak hypoxic pulmonary vasoconstriction, respectively, [27]. Species differences in the levels of soluble guanylyl cyclase in the pulmonary circulation, in its activation by acute hypoxia [40], or in the nature and localization of this activation [39] may also be important factors in creating the apparent differences in response to hypoxia among sheep [12], dog [13], human [18] and swine.

Inhaled or i.v. nitrgic treatment completely reversed the pulmonary hypertension induced by hypoxia. These results agreed with previous data which have shown that both endogenous [41] and exogenous NO [12–14, 18, 42] inhibit hypoxic pulmonary vasoconstriction.

The main finding of this study was that, in the swine model, for a similar degree of pulmonary vasodilation,

i.v. NTG decreased SAP whereas inhaled NO did not. Inhaled NO also improved oxygenation, while NTG did not. These results suggested that most of the inhaled NO which crosses the alveolo-capillary membrane is inactivated in the blood stream by haemoglobin [10,11].

We also observed a reduction in CVP and LAP in pigs treated with inhaled NO. This observation has not been reported previously and could be explained by two mechanisms.

(1) 'Mechanical' hypothesis: Pulmonary hypertension increased the right ventricular afterload, might shift the interventricular septum, reduce left ventricle compliance and increase left atrial pressure. All of these effects should be corrected by inhaled NO which normalizes the pulmonary circulation, i.e. reduces the pulmonary vascular resistance and the right ventricular afterload. The effect of inhaled NO on pulmonary circulation could then explain the observed cardiac effects.

(2) 'Chemical' hypothesis: Recent data have suggested that NO binds to SH groups to form S-nitrosothiols [43]. Such SH radicals are found in proteins. The S-nitrosoalbumins might be a NO reservoir which could protect NO from its inactivation in the blood stream [44]. This form of NO adducts with serum albumin could have EDRF-like properties and have an effect away from the site of NO production [45,46]. Other candidates for *in vivo* NO transport are the S-nitroso-haemoglobins [47] and the dinitrosyl-iron-complexes [48–50]. It has been found that inhaled NO may have extrapulmonary effects on the peripheral circulation such as the renovascular bed [51]. A systemic effect of S-nitroso-compounds formed in the pulmonary circulation by the interaction of circulating carrier substances and inhaled NO was another possible explanation.

The mechanism may incorporate a combination of the two hypotheses. Whatever the mechanism of systemic action of inhaled NO, this effect was very weak compared with its local effect on pulmonary circulation.

NTG is metabolized to NO through an intracellular pathway and is a NO donor [5,36–38]. Beside its effect on pulmonary and systemic circulations, we have found that i.v. NTG also modified the cardiac filling pressures.

Can nitroergic treatments affect the myocardial contractility? Neither inhaled NO nor i.v. NTG changed CO. However, this variable alone is not an accurate index of contractility because it is influenced by preload and afterload. NTG is metabolized to NO by several cells including cardiac myocytes. NO released in the myocardium activates myocardial guanylyl cyclase and increases myocardial cGMP [52–54]. Cyclic GMP depresses myocardial contractility by activating several cGMP dependent kinases which interfere with Ca^{2+} entry and Ca^{2+} uptake in the sarcoplasmic reticulum [35,55], and improved ventricular relaxation and diastolic distensibility [56]. Cyclic GMP is then an important messenger with an effect opposite to that of cAMP in myocardial cells [57].

Hypoxaemia in this pig-model was mainly a result of a low FiO_2 . However, without changing FiO_2 , inhaled NO increased PaO_2 by 15.6% and i.v. NTG had no effect on this variable. It could be supposed that inhaled NO improved the ventilation-perfusion matching and gas exchange as previously shown [12,17,20]. Inhaled NO and i.v. NTG reduced pulmonary hypertension to the same extent. Unlike i.v. NTG, inhaled NO attenuated the arterial hypoxaemia, and did not decrease SAP. Inhaled NO was shown to be a potent pulmonary vasodilator with minor systemic effects.

References

- 1 Wessel DL, Adatia I, Giglia TM, Thompson JE, Kulik JJ. Use of inhaled nitric oxide and acetylcholine in the evaluation of pulmonary hypertension and endothelial function after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1993; **88** (part 1): 2128–2138.
- 2 Bishop JM. Hypoxia and pulmonary hypertension in chronic bronchitis. *Prog Respir Res* 1975; **9**: 10–16.
- 3 Kobayashi Y, Amenta F. Neurotransmitter receptors in the pulmonary circulation with particular emphasis on pulmonary endothelium. *J Auton Pharmacol* 1994; **14**: 137–164.
- 4 Vlahakes GJ, Turley K, Hoffman JIE. The pathophysiology of failure in acute right ventricular hypertension: Hemodynamic and biochemical correlations. *Circulation* 1981; **63**: 87–95.
- 5 Pearl RG. Inhaled Nitric Oxide – *Epitomes-Anesthesiology*. *WJIM* 1995; **162**: 52–53.
- 6 Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; **329**: 2002–2012.

- 7 Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric Oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; **120**: 227-237.
- 8 Dinh-Xuan AT, Mira JP, Dall'Ava-Santucci J. Modulation of pulmonary vascular tone by nitric oxide in health and disease. In: Vincent JL, ed. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, New-York: Springer-Verlag, 1993: 465-473.
- 9 Koizumi T, Gupta R, Newman JH. Inhibition of EDRF results in marked vasoconstriction of upstream pulmonary vessels during exercise in sheep. *Am Rev Respir Dis* 1993; **147**: A226.
- 10 Rimard S, Gillis CN. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation* 1993; **88**: 2884-2887.
- 11 Fratacci MD, Frostell CG, Chen T-Y, Wain Jr JC, Robinson DR, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator of heparin - protamine vasoconstriction in sheep. *Anesthesiology* 1991; **75**: 990-999.
- 12 Pison U, López FA, Heideimeyer CF, Rossaint R, Falke KJ. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction without impairing gas exchange. *J Appl Physiol* 1993; **74**: 1287-1292.
- 13 Channick RN, Newhart JW, Johnson FW, Moser KM. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs - a practical nitric oxide delivery and monitoring system. *Chest* 1994; **105**: 1842-1847.
- 14 Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; **83**: 2038-2047.
- 15 Zapol WM, Falke KJ, Hurford WE, Roberts Jr JD. Inhaling nitric oxide: A selective pulmonary vasodilator and bronchodilator. *Chest Suppl* 1994; **105**: 87S-91S.
- 16 Dyar O, Young JD, Xiong L, Howell S, Johns E. Dose-response relationship for inhaled nitric oxide in experimental pulmonary hypertension in sheep. *Br J Anaesth* 1993; **71**: 702-708.
- 17 Weitzberg E, Rudehill A, Lundberg JM. Nitric oxide inhalation attenuates pulmonary hypertension and improves gas exchange in endotoxin shock. *Eur J Pharmacol* 1993; **233**: 85-94.
- 18 Frostell CG, Blomqvist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM. Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vaso dilation. *Anesthesiology* 1993; **78**: 427-435.
- 19 Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991; **338**: 1173-1174.
- 20 Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *New Engl J Med* 1993; **328**: 399-405.
- 21 Roberts JD, Polaner DM, Lang P, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992; **340**: 818-819.
- 22 Haydar A, Malhere T, Mauriat P, et al. Inhaled nitric oxide for postoperative pulmonary hypertension in patients with congenital heart defects. *Lancet* 1992; **340**: 1545.
- 23 Rich GF, Murphy Jr GD, Roos CM, Johns RA. Inhaled nitric oxide. Selective pulmonary vasodilation in cardiac surgical patients. *Anesthesiology* 1993; **78**: 1028-1035.
- 24 Holden EW, McCall E. Hypoxia-induced contractions of porcine pulmonary artery strips depends on intact endothelium. *Exp Lung Res* 1984; **7**: 101-112.
- 25 Zellers TM, Shimokawa H, Yunginger J, Vanhoutte PM. Heterogeneity of endothelium-dependant and endothelium-independent responses to aggregating platelets in porcine pulmonary arteries. *Circ Res* 1991; **68**: 1437-1445.
- 26 Hebb C. Motor innervation of the pulmonary blood vessels of mammals. In: Fishman AP, Hecht HH, eds. *The Pulmonary Circulation and Interstitial Space*. Chicago: University of Chicago Press, 1969: 195-217.
- 27 Grover RF, Wagner WW, McMurtry IF, Reeves JT. Pulmonary circulation. In: Bethesda MD, ed. *Handbook of Physiology the Cardiovascular System Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*. New-York: Am Physio Soc, 1983; **III**: 103-136.
- 28 Muir WW, Hubbell JAE, Skarda R. Anesthetic Procedures and Techniques in Pigs. In: Muir WW, Hubbell JAE, eds. *Handbook of Veterinary Anesthesia*, St Louis: The CV. Mosby Company, 1989: 228-233.
- 29 Dubé L, Francaeur M, Troncy E, Carrier R, Blaise G. Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Can J Anaesth* 1995; **42**: 922-927.
- 30 Searle NR. Endothelial vasomotor regulation in health and disease. *Can J Anaesth* 1992; **39**: 838-857.
- 31 Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EDA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; **43**: 109-142.
- 32 Myers PR, Minor Jr RL, Guerra Jr R, Bates JN, Harrison DG. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990; **345**: 161-163.
- 33 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; **288**: 373-376.
- 34 Ignarro LJ. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ Res* 1989; **65**: 1-21.
- 35 Welch G, Loscalzo J. Nitric oxide and the cardiovascular system. *J Card Surg* 1994; **9**: 361-371.
- 36 Harrison DG, Bates JN. The nitrovasodilators. New ideas about old drugs. *Circulation* 1993; **87**: 1461-1467.

- 37 Kiechle FL, Malinski T. Nitric oxide: Biochemistry, pathophysiology, and detection. *Am J Clin Pathol* 1993; **100**: 567–575.
- 38 Chung SJ, Fung HL. Relationship between nitroglycerin-induced vascular relaxation and nitric oxide production. *Biochem Pharmacol* 1993; **45**: 157–163.
- 39 Tönz M, von Segesser LK, Schilling J *et al*. Treatment of Acute Pulmonary Hypertension With Inhaled Nitric Oxide. *Ann Thorac Surg* 1994; **58**: 1031–1035.
- 40 Dinh-Xuan AT. Endothelial modulation of pulmonary vascular tone. *Eur Respir J* 1992; **5**: 757–762.
- 41 Ogata M, Ohe M, Katayose D, Takishima T. Modulatory role of EDRF in hypoxic contraction of isolated porcine pulmonary arteries. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1992; **262**: H691–H697.
- 42 Radermacher P, Huet Y, Pluskwa F *et al*. Comparison of ketanserin and sodium nitroprusside in patients with severe ARDS. *Anesthesiology* 1988; **68**: 152–157.
- 43 Stamler JS, Simon DI, Osborne JA *et al*. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; **89**: 444–448.
- 44 Stamler JS, Jaraki OA, Osborne JA *et al*. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; **89**: 7674–7677.
- 45 Keaney JF, Simon Jr DI, Stamler JS *et al*. NO forms and adduct with serum albumin that has endothelium-derived relaxing factor-like properties. *J Clin Invest* 1993; **91**: 1582–1589.
- 46 Kaufmann MA, Castelli I, Pargger H, Drop LJ. Nitric oxide dose–response study in the isolated perfused rat kidney after inhibition of endothelium-derived relaxing factor synthesis: The role of serum albumin. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; **273**: 855–862.
- 47 Lia J, Bonaventura C, Stamler JS. S-nitrosohemoglobin: a new transport function of arterial erythrocytes involved in regulation of blood pressure. *Endoth* 1995; Suppl 3: s6 (#23).
- 48 Kuo PC, Schroeder RA. The Emerging Multifaceted Roles of Nitric Oxide. *Ann Surg* 1995; **221**: 220–235.
- 49 Vedernikov YP, Mordvintcev PÍ, Malenkova IV, Vanin AF. Similarity between the vasorelaxing activity of dinitrosyl iron cysteine complexes and endothelium-derived relaxing factor. *Eur J Pharmacol* 1992; **211**: 313–317.
- 50 Mulsch A, Mordvintcev PI, Vanin AF, Busse R. Formation and release of dinitrosyl iron complexes by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Communication* 1993; **196**: 1303–1313.
- 51 Troncy E, Vinay P, Francaeur M, Salazkin I, Blaise G. Nitric oxide by inhalation influences renal function in pigs. *Endoth* 1995; Suppl 3: s114 (#454).
- 52 Brady A JB, Warren JB, Poole-Wilson PA, Williams TJ, Harding SE. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 1993; **265**: H176–H182.
- 53 Balligand JL, Ungureanu D, Kelly RA *et al*. Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium. *J Clin Invest* 1993; **91**: 2314–2319.
- 54 Lohmann SM, Fischmeister R, Walter U. Signal transduction by cGMP in heart. *Basic Res Cardiol* 1991; **86**: 503–514.
- 55 Schulze W, Krause EG. Cytochemical demonstration of guanylate cyclase activity in cardiac muscle. *Histochemistry* 1983; **77**: 243–254.
- 56 Paulus WJ, Vantrimpont PJ, Shah AM. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans: Assessment by coronary sodium nitroprusside infusion. *Circulation* 1994; **89**: 2070–2078.
- 57 Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TN, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: 347–351.

6.2 Effets extra pulmonaires du monoxyde d'azote inhalé chez le Porc témoin ou traité par la phényléphrine.

Dans l'étude précédente⁽⁶¹⁾ l'inhalation d'un gaz hypoxique, *i.e.* la FiO_2 est inférieure à 0,21, entraîne une vasoconstriction pulmonaire réactionnelle afin de limiter le débit sanguin des artérioles perfusant les alvéoles hypo- ou non-ventilées. Appelé vasoconstriction pulmonaire hypoxique (VPH), ce phénomène aboutit à une hausse de la pression pulmonaire. L'infusion de phényléphrine, elle, vasoconstricte les artérioles de résistance systémique mais peu ou prou les artérioles pulmonaires. Il s'en suit que l'hypertension pulmonaire développée est dite passive, post-capillaire, secondaire à l'augmentation de la pression de remplissage atriale gauche due elle-même à la hausse marquée de post-charge du ventricule gauche. Par l'utilisation de ce nouveau modèle, nous tenions à quantifier les facultés d'hypotenseur pulmonaire du NO inhalé en présence d'un tonus vasomoteur pulmonaire normal. Si présent, l'effet anti-hypertenseur du NO inhalé pourrait s'expliquer par un effet myocardique, traduisant de ce fait la possibilité d'activité extra pulmonaire de la thérapeutique.

Comme dans l'étude précédente, nous avons comparé les effets du NO inhalé à la dose unique de 40 ppm à ceux d'une infusion de nitroglycérine sur les paramètres hémodynamiques pulmonaires et systémiques, ventilatoires et les échanges gazeux. De plus, nous avons réalisé une étude pharmacocinétique par un suivi des taux plasmatique et urinaire des nitrites (NO_2) et nitrates (NO_3), métabolites terminaux des NO_x dans l'organisme. Finalement, afin d'évaluer la présence d'effets extra pulmonaires du NO inhalé, nous avons aussi comparé les effets du NO inhalé et de la nitroglycérine intraveineuse sur la diurèse et l'hémodynamique rénale.

Extra-pulmonary effects of inhaled nitric oxide in swine with and without phenylephrine

J. TRONCY, M. FRANCŒUR, I. SALAZKIN, F. YANG, M. CHARBONNEAU, G. LECLERC, P. VINAY AND G. BLAISE

Summary

We have compared the effects of inhaled nitric oxide (iNO) and i.v. nitroglycerin (ivGTN) on the haemodynamic response to phenylephrine-induced hypertension (PEHT) in anaesthetized pigs. PEHT did not change either pulmonary vascular resistance or gas exchange throughout all experiments. Both treatments lowered pulmonary arterial pressure to the same extent (-12.4% iNO; -13.7% ivGTN) and passively via an effect on left atrial pressure (-26.3% iNO; -31.4% ivGTN). Both treatments failed to reverse the decrease in renal blood flow (RBFc) induced by PEHT, but both increased urinary flow (UF) (+128% iNO; +148% ivGTN). ivGTN significantly increased plasma concentrations of nitrite and nitrate during (+22.7% arterial blood; +26.2% venous blood) and beyond the period of infusion (iNO: +6.4% and +4.9%, respectively). In four control pigs (no PEHT), iNO markedly increased RBFc (+109%), glomerular filtration rate (+72.5%) and UF (+68.7%). We conclude that iNO may have direct cardiac and renal effects, probably via intervention of NO carrier forms such as S-nitroso compounds. (*Br. J. Anaesth.* 1997; 79: 631-640).

Key words

ases non-anaesthetic, nitric oxide. Pharmacology, nitric oxide. Pharmacology, nitroglycerin. Sympathetic nervous system, phenylephrine. Pig. Kidney, function. Kidney, diuresis.

v. endothelium-independent nitrovasodilators such as sodium nitroprusside and nitroglycerin (ivGTN) reduce their vasodilator effects by providing nitric oxide.¹ In contrast with i.v. medication, inhaled nitric oxide (iNO) is used commonly as a selective pulmonary vasodilator in experimental² and clinical³ conditions. Inhaled NO is "microselective" in that it dilates only vessels directly adjacent to the alveolar units being ventilated. Therefore, in a hypoxaemic patient, iNO may improve oxygenation by improving ventilation/perfusion matching with redistribution of blood flow from unventilated unperfused areas to ventilated but underperfused areas.⁴ Some authors also explain the improved oxygenation with iNO by the fact that it produces

local bronchodilation,^{2,4} decreases vascular permeability and the appearance of pressure-driven pulmonary oedema,⁴ and exerts a platelet anti-aggregating effect.²

A swine model has been used in the past to study the treatment of experimental pulmonary hypertension induced by hypoxia,⁵ a thromboxane analogue,⁶ oleic acid-induced ARDS⁷ or sepsis.^{2,4} Phenylephrine is a sympathomimetic amine commonly used in *in vitro* studies of the L-arginine:NO pathway⁸ or to counteract clinical hypotension.⁹ We have developed a phenylephrine-induced hypertension (PEHT) model in anaesthetized pigs. We wished to test the hypothesis that iNO does not affect the systemic circulation. Accordingly, we compared the effects of iNO and ivGTN on pulmonary and systemic haemodynamics and gas exchange, in addition to plasma and urinary concentrations of nitrite (NO₂⁻) and nitrate (NO₃⁻), stable metabolites of nitrogen oxides and related species (NO_xs), that is pNO_x⁻ and uNO_x⁻, respectively. In order to evaluate potential extra-pulmonary effects of iNO, we have compared the effects of iNO and ivGTN on diuresis and renal haemodynamics in pigs in the presence or absence of PEHT.

Materials and methods

This study was approved by the Institutional Research and Animal Welfare Committee. The animals were treated according to the Canadian Council on Animal Care guidelines. We studied 28 female pigs, mean weight 22.84 (SEM 0.27) kg.

The pigs were premedicated with azaperone 2 mg kg⁻¹ i.m., ketamine 15 mg kg⁻¹ i.m. and atropine 4 µg kg⁻¹ i.m. After induction of anaesthesia with fentanyl 5 µg kg⁻¹ i.v. and pentobarbitone 6.5 mg kg⁻¹ i.v., the trachea was intubated and the lungs ventilated using a volume-controlled ventilator (Ventilator 7200 AE, Puritan Bennett, Carlsbad,

ERIC TRONCY, DVM, MSC, MARTIN FRANCŒUR, RRT, IGOR SALAZKIN, MD, FAN YANG, MD, GILBERT BLAISE, MD (Anaesthesia Laboratory and Department of Anaesthesia); MARC CHARBONNEAU, MD, GUY LECLERC, MD, PATRICK VINAY, MD, PHD (Department of Medicine); Centre Hospitalier de l'Université de Montréal-Pavillon Notre-Dame, 1560 Sherbrooke Street East, Québec, Canada H2L 4M1. Accepted for publication: June 25, 1997.

CA, USA). Tidal volume was set at 15 ml kg⁻¹, $F_{I_{O_2}}$ at 0.30 (Oxygen Monitor 5590, Hudson RCI, Temecula, CA, USA) and ventilatory frequency adjusted to maintain the partial pressure of arterial carbon dioxide ($P_{a_{CO_2}}$) at 4.6–6.0 kPa (Blood gases analyser IL 1620, Coulter Electronics Ltd, Ville Saint-Laurent, Qc, Canada). Anaesthesia was maintained with continuous infusion of fentanyl 3.8 µg kg⁻¹ h⁻¹ and pentobarbitone 9.8 mg kg⁻¹ h⁻¹. Neuromuscular block was produced with a mixture of tubocurarine 0.2 mg kg⁻¹ h⁻¹ and pancuronium 0.15 mg kg⁻¹ h⁻¹. Lactated Ringer's solution was infused at a rate of 15 ml kg⁻¹ h⁻¹ to meet maintenance needs during open-chest surgery.

After placing the electrocardiographic leads, we inserted an arterial pressure catheter (carotid artery), two venous infusion cannulae (external jugular vein, auricular vein), a pulmonary artery thermodilution catheter (for cardiac output), a core temperature probe and central venous catheter. Median sternotomy was performed, the pericardium opened and two catheters (12-gauge) inserted, one into the main pulmonary artery and the other into the left atrial appendage for pressure monitoring in addition to arterial and venous blood sampling for blood-gas analysis. The pericardium and chest wall were closed with sutures and metallic wires. Via a laparotomy, the left renal vein (renal venous blood sampling site) and both ureters were catheterized, and the left ovarian vein was ligated because of drainage into the renal vein. After instrumentation, 45 min were allowed to elapse to obtain a stable physiological state.

Each experiment was divided into four stages (I–IV) of 20 min (table 1). Animals were enrolled in the experiments in random order.

Control arm. In control studies we evaluated the effect of time (experiment A), PEHT alone (experiment B) and iNO alone (experiment C).

Experimental arm. The four stages in the experiments were: (I) baseline measurements, (II) induction of PEHT by continuous infusion of phenylephrine diluted in saline (mean 14.68 (SEM 1.36) µg kg⁻¹ min⁻¹), (III) intervention to treat PEHT with an infusion of ivGTN (experiment D) or 40 ppm of iNO (experiment E), and (IV) a recovery period where both the hypertensive stimulus and treatment were discontinued.

ADMINISTRATION OF ivGTN

The dose of ivGTN (Nitroject, Omega Laboratories

Ltd, Montréal, Qc, Canada) was started at 10 µg kg⁻¹ min⁻¹ and increased progressively (3-min interval) to reduce mean pulmonary arterial pressure to the level observed after iNO. The period of measurement (stage III) was then started. The mean final dose of ivGTN used in experiment D was 92.43 (SEM 13.45) µg kg⁻¹ min⁻¹.

ADMINISTRATION OF iNO

A mixture of NO–N₂ 972 ppm (Cylinder NO 972 ppm, <5 ppm of NO₂, Vitalaire Canada, Montréal, Qc, Canada) was injected cyclically into the inspiratory limb of the ventilator system using a method developed in our institution.¹⁰ Concentrations of gaseous NO and NO_xs were monitored continuously using a chemiluminescence analyser (CLD700AL NO/NO_x analyser, Ecophysics Tecan AG, Dürten, Switzerland). Based on our previous work,^{5,6} we chose to study the effects of iNO 40 ppm. This dose was shown in several studies^{3–7} to have a significant pulmonary vasodilator effect while ensuring an inspired fraction of NO₂ below 1 ppm with our system.¹⁰

RENAL MONITORING

Thirty minutes before the beginning of baseline measurements (stage I), a bolus of inulin 2 g and para-amino-hippuric acid (PAH) 2 g dissolved in 50 ml of glucose were administered, immediately followed by an infusion of inulin 2 g and PAH 4 g dissolved in 1000 ml of glucose at a constant rate of 1 ml min⁻¹. Blood samples (4 ml) were obtained simultaneously from the left renal vein and carotid artery in order to measure packed cell volume (PCV), PAH and inulin concentrations, in addition to arterial and venous pNO_x⁻ concentrations. Blood samples were collected at the beginning of stage I and at the end of each 20-min period. Urine was collected separately in graduated cylinders from both ureters at 5-min interval during the whole procedure to measure urinary flow (UF), PAH and inulin concentrations, and uNO_x⁻. The concentration of PAH in both urine and blood was measured using the technique described by Bratton and Marshall.¹¹ Renal plasma flow (RPF) was taken as PAH clearance ($Cl_{PAH} = C_u \times (UF/C_a)$), where C_u = PAH concentration in urine and C_a = PAH concentration in arterial blood plasma). Renal plasma flow was corrected (RPF_c) for PAH extraction coefficient

Table 1 Study design. *No intervention. †PE=Phenylephrine infusion at mean 15.75 (SEM 0.85) µg kg⁻¹ min⁻¹; ‡PE=phenylephrine infusion at 14.68 (1.36) µg kg⁻¹ min⁻¹; iNO=inhaled nitric oxide 40 ppm; ivGTN=nitroglycerine infusion at 92.43 (13.45) µg kg⁻¹ min⁻¹

Arm	Protocol	Stage and time				Sample size
		I 30–50'	II 50–70'	III 70–90'	IV 90–110'	
Control	A	Nil*	Nil	Nil	Nil	n=4
	B	Nil	PE†	PE†	Nil	n=4
	C	Nil	iNO	iNO	Nil	n=4
Experimental	D	Nil	PE‡	PE‡-ivGTN	Nil	n=8
	E	Nil	PE‡	PE‡-iNO	Nil	n=8

($E_{PAH} = (C_a - C_v) / C_a$, where C_v = PAH concentration in renal vein blood plasma), and renal blood flow corrected for PAH extraction (RBFc) was taken as $RPFc / (1 - PCV)$. Because PAH acetylation was observed with some pigs, RBFc was calculated for each 5-min interval using PAH and inulin clearances and extractions. Inulin concentration was measured by an anthrone colorimetric technique,¹² and whole kidney glomerular filtration rate (GFR) was calculated for each 5-min interval by the standard clearance formula.

MEASUREMENTS OF pNO_x^- AND uNO_x^-

Plasma samples obtained by centrifugation were diluted 10-fold with distilled water and deproteinized by adding 5% volume of zinc sulphate to a final concentration of 15 g litre⁻¹.¹³ After centrifugation at 1000×g for 15 min at room temperature, 100 µl of supernatant were applied to a microreaction purge vessel chamber (270B NO analyser, Sievers Research Inc, Boulder, CO, USA) equipped with a temperature regulator and a condenser, which allowed direct introduction of prepared plasma and urine samples into the reducing solution. pNO_x^- and uNO_x^- concentrations were measured by conversion to NO using hot acidic vanadium (III) chloride. NO was eluted in a stream of nitrogen and detected by an ozone-induced chemiluminescence reaction. The NO/ NO_x analyser was connected directly to a data acquisition system (Mac Lab, Lamont Scientific Ltd., Downsview, Ont, Canada). Each sample was analysed in duplicate and measured once at the end of each 20-min period, as described previously.¹³

CARDIORESPIRATORY VARIABLES

Systolic (SAP), mean (MAP) and diastolic (DAP) systemic arterial pressures, mean pulmonary arterial pressure (PAP), left atrial pressure (LAP), central venous pressure (CVP), heart rate (HR) and cardiac output (CO; 5 ml of cold normal saline were injected in triplicate for each measurement) were recorded every 5 min in each period. Arterial and mixed venous blood-gas tensions were measured once at the end of each 20-min period.

DATA ANALYSIS

In the control arm, the sample size was $n=4$ for each experiment (table 1). In the experimental arm, the sample size was $n=8$ for each experiment. Half of the pigs in experiments D and E were used to evaluate renal effects and the other half to measure pNO_x^- and uNO_x^- concentrations.

Data distribution of each variable was Gaussian. For each stage, mean values of four measurements (obtained every 5 min) or a single measurement (obtained only once during each stage) were chosen as the values for the period. Pulmonary (PVR) and systemic (SVR) vascular resistances were calculated using standard formulae. All values are reported as mean (SEM) for each variable in each stage (I–IV) of the experiments.

Data were analysed using SuperANOVA (V 1.11,

Abacus Concepts Inc. 1989/1991, Berkeley, CA, USA) and SAS (Statistical Analysis System V6.11 for Windows 95, SAS Institute Inc. 1995, Cary, NC, USA) software.

For each experiment, the effect of stage was evaluated with the one-factor repeated measures analysis of variance (F-ANOVA) and, when necessary, multiple comparisons were made using Fisher's protected least significant difference (LSD_F) test.

Between the five experiments, for the difference between two stages (e.g. stages-difference

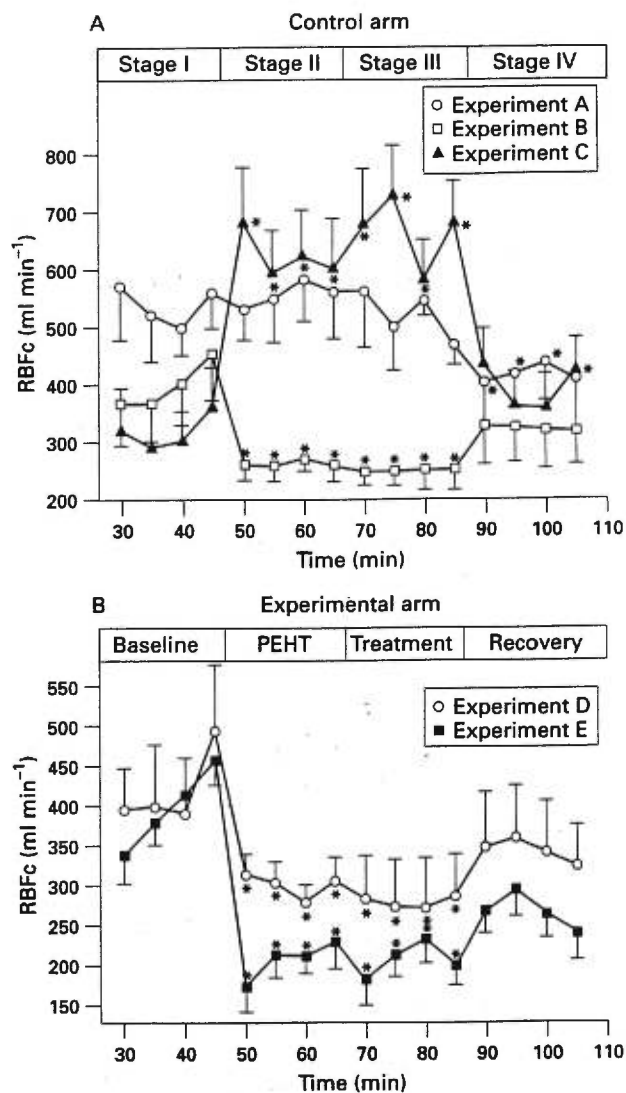


Figure 1 Variation in renal blood flow corrected for PAH extraction (RBFc). A: Control arm: mean (SEM) values for RBFc for each sampling time in each stage (I–IV) for experiment A (no intervention during the four stages), experiment B (infusion of phenylephrine 15.75 (0.85) µg kg⁻¹ min⁻¹ during stages II and III), and experiment C (iNO 40 ppm during stages II and III). RBFc decreased with time in experiment A. Infusion of phenylephrine significantly reduced RBFc while iNO considerably increased RBFc. *Significant difference for F-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_F test of the stage compared with stage I ($P < 0.008$). B: Experimental arm: mean (SEM) values for RBFc for each sampling time in each stage (I–IV) for experiment D (PEHT + ivGTN treatment) and experiment E (PEHT + iNO treatment). Infusion of phenylephrine significantly reduced RBFc and nitroergic treatments failed to reverse the decrease. *Significant difference for F-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_F test of the stage compared with stage I ($P < 0.008$). (See text for further details.)

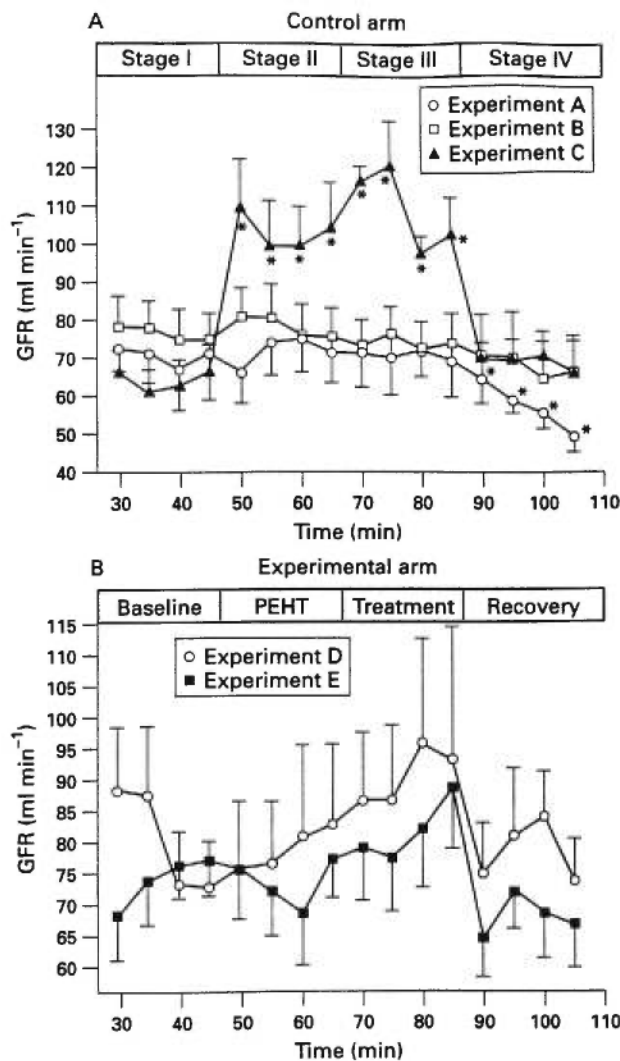


Figure 2 Variation in glomerular filtration rate (GFR). A: Control arm: mean (SEM) values for GFR for each sampling time in each stage (I-IV) for experiment A (no intervention during the four stages), experiment B (infusion of phenylephrine 15.75 (0.85) $\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ during stages II and III), and experiment C (iNO 40 ppm during stages II and III). GFR decreased with time in experiment A. Infusion of phenylephrine had no effect on GFR while iNO considerably increased GFR. *Significant difference for F-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_F test of the stage compared with stage I ($P < 0.008$). B: Experimental arm: mean (SEM) values for GFR for each sampling time in each stage (I-IV) for experiment D (PEHT+ivGTN treatment) and experiment E (PEHT+iNO treatment). Infusion of phenylephrine and nitroergic treatments did not modify GFR. (See text for further details.)

(III-I)=between stages III and I), one-way analysis of variance (W-ANOVA) was used and multiple comparisons were made using Fisher's protected least significant difference (LSD_W) test.

$P < 0.05$ was considered significant, except for multiple comparisons where the global significance level of 0.05 was adjusted for the number of null hypotheses tested ($P < 0.008$ for multiple comparisons within group LSD_F and $P < 0.005$ for multiple comparisons between the five groups LSD_W).

Results

For each experiment, the cardiovascular, renal and

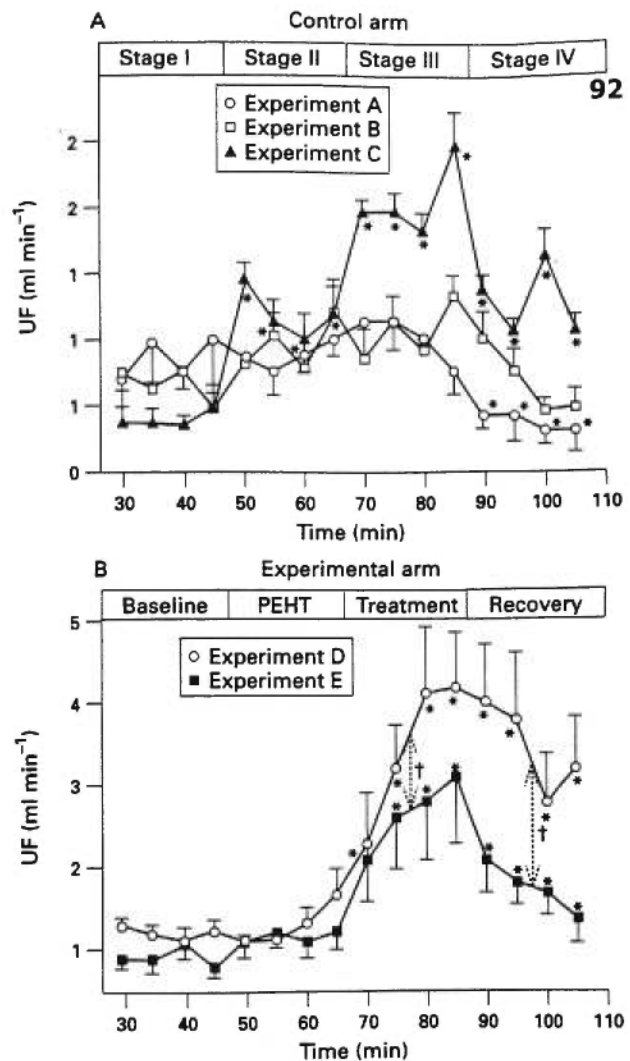


Figure 3 Variation in urinary flow (UF). A: Control arm: mean (SEM) values for UF for each sampling time in each stage (I-IV) for experiment A (no intervention during the four stages), experiment B (infusion of phenylephrine 15.75 (0.85) $\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$ during stages II and III), and experiment C (iNO 40 ppm during stages II and III). UF decreased with time in experiment A. Infusion of phenylephrine had no effect on UF while iNO considerably increased UF. *Significant difference for F-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_F test of the stage compared with stage I ($P < 0.008$). B: Experimental arm: mean (SEM) values for UF for each sampling time in each stage (I-IV) for experiment D (PEHT+ivGTN treatment) and experiment E (PEHT+iNO treatment). Infusion of phenylephrine did not modify UF and both nitroergic treatments significantly increased UF, ivGTN more than iNO. *Significant difference for F-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_F test of the stage compared with stage I ($P < 0.008$). †Significant difference between groups for W-ANOVA ($P < 0.05$) and for the LSD_W test ($P < 0.005$) on the difference (III-II) and (IV-III). (See text for further details.)

metabolic (pNO_x^- , uNO_x^-) effects observed during each stage are presented.

CONTROL ARM

In experiment A on the effect of time, there was no change in the measured variables, except for a decrease in renal haemodynamics and diuresis: stage IV was different from the three preceding periods for RBFc (-22.9%; fig. 1A), GFR (-20.8%; fig. 2A) and UF (-19.5%, fig. 3A).

Table 2 Effects of phenylephrine (PEHT) and its treatment by inhaled NO (iNO) or i.v. nitroglycerin (ivGTN) on pulmonary and systemic haemodynamic variables (mean (SEM) in anaesthetized pigs. [III–II]=Mean (SEM) values of the percentage variation between stages III (treatment) and II (PEHT). **P* value < α ; †*P* value of the one-factor repeated measures analysis of variance for the within-group analysis on the four periods was not significant. P_1 =*P* value of Fisher's protected LSD_F test for comparison of stages II and III within group (α =0.008); P_2 =*P* value of Fisher's protected LSD_w test for comparison of the difference [III–II] between groups (α =0.005)

		Baseline (I)	PEHT (II)	Treatment (III)	[III–II] (%)	Recovery (IV)	P_1
PAP (mm Hg)	iNO	22 (0.97)	29.1 (1.17)	25.5 (1.06)	–12.4 (0.81)	23.06 (1.1)	0.0001*
	ivGTN	21.5 (1.23)	29.1 (1.52)	25.1 (0.64)	–13.7 (1.34)	23.8 (0.83)	0.001*
					$P_2=0.51$		
PVR (dyn s cm ⁻⁵)	iNO	382.9 (16)	341.8 (23.37)	357.3 (18.27)	+4.5 (3.63)	416.3 (20)	ns†
	ivGTN	309.4 (17.3)	313.7 (23)	309.3 (20.7)	–1.4 (2.82)	336.5 (29.5)	ns
					$P_2=0.92$		
MAP (mm Hg)	iNO	104.9 (7.8)	172.5 (4.56)	161.5 (4.35)	–6.3 (3.07)	100.4 (5.32)	0.004*
	ivGTN	89.8 (3.4)	160.1 (1.52)	97.1 (4.84)	–39.4 (4.52)	84.5 (2.8)	0.0001*
					$P_2=0.00001^*$		
SVR (dyn s cm ⁻⁵)	iNO	3020.8 (149.1)	4924.3 (217.2)	4494.3 (159.2)	–8.7 (7.7)	3133.5 (123)	0.068
	ivGTN	2318.9 (85.7)	4480.3 (253)	2263.9 (146.8)	–49.3 (9.96)	2292.6 (136)	0.00001*
					$P_2=0.001^*$		
SAP (mm Hg)	iNO	116.2 (6.96)	199.7 (4.7)	178.2 (4.63)	–10.8 (2.22)	111.6 (3.4)	0.0001*
	ivGTN	109.4 (3.64)	196.9 (2.54)	122.2 (5.5)	–37.9 (4.77)	104.6 (3.2)	0.0001*
					$P_2=0.000001^*$		
DAP (mm Hg)	iNO	91.31 (5.3)	147.6 (4.87)	140.5 (4.56)	–4.8 (1.8)	84.55 (4)	0.04
	ivGTN	75.82 (4.92)	138.5 (5.4)	79.6 (3.92)	–42.5 (5.55)	67.96 (3.2)	0.0001*
					$P_2=0.000001^*$		
LAP (mm Hg)	iNO	9.06 (0.9)	17.1 (1.1)	12.6 (1.27)	–26.3 (3.78)	10.06 (1.07)	0.0001*
	ivGTN	10.5 (1.13)	18.8 (1.52)	12.9 (0.46)	–31.4 (6.1)	12.43 (0.72)	0.0001*
					$P_2=0.1$		
CVP (mm Hg)	iNO	5.72 (0.4)	9.9 (0.92)	8 (0.64)	–19.1 (2.76)	6.14 (0.5)	0.0001*
	ivGTN	7.7 (0.37)	10.5 (0.46)	7.8 (0.39)	–25.7 (3.43)	7.86 (0.31)	0.0001*
					$P_2=0.09$		
HR (beat min ⁻¹)	iNO	122.6 (7.51)	120.6 (7.1)	132.2 (9.36)	+9.06 (2.6)	129.4 (5.6)	ns
	ivGTN	132.43 (9)	141.3 (10.3)	158.1 (9.75)	+11.9 (3.85)	144.6 (8)	ns
					$P_2=0.1$		
CO (litre min ⁻¹)	iNO	2.73 (0.18)	2.76 (0.18)	2.81 (0.14)	+1.8 (2.05)	2.47 (0.16)	ns
	ivGTN	2.87 (0.15)	2.95 (0.35)	3.1 (0.28)	+5.1 (2.76)	2.86 (0.26)	ns
					$P_2=0.37$		

Table 3 Plasma nitrite and nitrate (pNO_x⁻) concentrations (mean (SEM)) during phenylephrine-induced hypertension (PEHT), and its treatment with superimposed inhaled NO (iNO) or i.v. nitroglycerin (ivGTN) in anaesthetized pigs. There was no difference between arterial and venous pNO_x⁻ values. **P* value < α . P_1 =*P* value of the one-factor repeated measures analysis of variance for the within-group analysis on the four periods (α =0.05); P_2 =*P* value of Fisher's protected LSD_F test for multiple comparison of stages within group (α =0.008). P_3 =*P* value of Fisher's protected LSD_w test for comparison of the stages-difference between experiments D and E (α =0.005)

		Baseline (I)	[II–I]	PEHT (II)	[III–II]	Treatment (III)	[IV–III]	Recovery (IV)	[IV–I]	P_1
Arterial pNO _x ⁻ (μ mol litre ⁻¹)	iNO	86.4 (2.1)		90.6 (1.3)		96.4 (2.7)		82.7 (2.6)		0.002*
	P_2		0.16		0.057		0.0001*		0.21	
	ivGTN	98.7 (8.3)		102 (11)		124.6 (12)		122 (9.5)		0.004*
	P_2		0.9		0.003*		0.9		0.001*	
	P_3		0.71		0.002*		0.0048*		0.001*	
Venous pNO _x ⁻ (μ mol litre ⁻¹)	iNO	93 (6.29)		101 (7.1)		105.9 (4.1)		90.1 (3.5)		0.04*
	P_2		0.39		0.63		0.004*		0.76	
	ivGTN	85.5 (6.9)		92.5 (10)		117 (11.2)		113 (10)		0.02*
	P_2		0.78		0.004*		0.89		0.001*	
	P_3		0.17		0.002*		0.004*		0.003*	

During experiment B, phenylephrine significantly increased PAP by 40% (LSD_F comparison of stage II with stage I: $P=0.0001$), but PVR remained unchanged (F-ANOVA: $P=0.42$). PEHT significantly increased MAP and SVR: +65.9% and +64.5%, respectively. LAP and CVP exhibited similar changes: +67.9% and +49%, respectively. Phenylephrine had no effect on HR or CO (F-ANOVA, $P=0.17$ and $P=0.33$, respectively). The haemodynamic changes were stable during stage III. Compared with stage I, phenylephrine induced a similar decrease in RBFc for stage II (–34%, LSD_F: $P=0.001$) (fig. 1A) and III (–37%, LSD_F: $P=0.001$) (fig. 1A) but other renal variables remained

unchanged (figs 2A and 3A). The vasoconstrictor did not significantly modify arterial (92.6 (4) to 96 (5.1) μ mol litre⁻¹) or venous (89.8 (5.5) to 94.1 (8.3) μ mol litre⁻¹) pNO_x⁻ or uNO_x⁻ (988.2 (73.4) to 1132.4 (102.6) μ mol litre⁻¹) concentrations.

In experiment C, iNO alone did not significantly alter cardiorespiratory variables. However, renal function was affected: RBFc increased by +94% (LSD_F: $P=0.0046$) (fig. 1A), GFR by +63% (LSD_F: $P=0.0001$) (fig. 2A) and UF by +34% (LSD_F: $P=0.006$) (fig. 3A) during stage II; the changes in the three variables remained constant during stage III (+109%, +72.5% and +68.7%, respectively) (figs 1A–3A). UF remained high during stage IV (LSD_F:

$P=0.001$ compared with stage I (fig. 3A). The concentration of pNO_x^- was slightly modified by iNO in arterial (109.2 (3.1) to 119.8 (3.3) $\mu\text{mol litre}^{-1}$) and venous (116.4 (4.7) to 124.3 (4.8) $\mu\text{mol litre}^{-1}$) blood, and uNO_x^- increased from 691.2 (113.8) to 1011.3 (157.3) $\mu\text{mol litre}^{-1}$ during stage II. ΔpNO_x^- increased continually during stage III compared with stage I (+22.1 and +21.4 $\mu\text{mol litre}^{-1}$ in arterial and venous blood), and decreased on cessation of iNO. The value of uNO_x^- remained at the same high level during stages III and IV.

EXPERIMENTAL ARM

Infusion of phenylephrine in experiments D and E produced the same cardiovascular (table 2), renal (fig. 1B–3B) and metabolic (table 3) effects as in experiment B (W-ANOVA: $P>0.1$ on difference (II–I) between experiments B, D and E).

Both nitrenergic treatments decreased LAP (–31.4% ivGTN group=experiment D; –26.3% iNO group=experiment E) and CVP (–25.7% and –19.1%, respectively), achieving the same stages-difference (III–II) between experiments D and E (LSD_w: $P=0.1$ for LAP and $P=0.09$ for CVP) (table 2). The effect on pulmonary hypertension was the same in both groups (table 2): PAP decreased by 13.7% and 12.4%, respectively. IvGTN decreased MAP (–39.4%) and SVR (–49.3%), and iNO induced a much smaller decrease in systemic haemodynamic variables (table 2). HR, CO and blood-gas values remained unchanged throughout the experiment.

The two nitrenergic treatments did not reverse the decrease in RBF_c induced by phenylephrine (fig. 1B), but they both increased UF (+148%, LSD_F: $P=0.0005$ for experiment D; +128%, LSD_F: $P=0.0004$ for experiment E) (fig. 3B). Comparison between experiments D and E on stages-difference (III–II) showed that ivGTN exerted more effect on UF than iNO (LSD_w: $P=0.003$). Infusion of ivGTN increased pNO_x^- concentrations compared with stage II (table 3): +22.8% for arterial blood and +26.2% for venous blood. The values in experiment E were +6.4% and +4.9% for arterial and venous blood, respectively (table 3). Both nitrenergic treatments markedly increased uNO_x^- concentrations (+65.4% for experiment D and +46.3% for experiment E).

At the end of the experiment, cardiovascular, respiratory and renal (except for UF in experiments D and E (LSD_F: $P=0.001$ for comparison of stages IV to equivalent stages I; fig. 3B) variables essentially returned to their initial values. In experiment D, the increases in arterial and venous pNO_x^- (table 3) and uNO_x^- concentrations observed during stage III were still present during stage IV. Twenty minutes after cessation of iNO, pNO_x^- concentration significantly decreased (compared with stage III) in experiment E (table 3), whereas uNO_x^- remained high (1206.4 (108.9) $\mu\text{mol litre}^{-1}$). Comparison between experiments D and E on stages-differences (IV–III) and (IV–I) confirmed that pNO_x^- returned to baseline values in the iNO group but not in the ivGTN group.

Discussion

To our knowledge, this is the first report of PEHT in swine treated with nitrenergic therapies and the first study of the haemodynamic extra-pulmonary effects of iNO.

The model used in these studies is well established. There was no mortality during the surgical preparations and we demonstrated with experiment A that cardiorespiratory variables remained stable during the period of the study and there were only minimal changes in renal function.

EXPERIMENT B

Cardiovascular effects

Phenylephrine acts on both α_1 - and α_2 -adrenoceptors¹⁴ and induces hypertension (major α_1 -effect) by constricting resistance and, to a lesser degree, capacitance vessels.⁹ We observed no signs of tachyphylaxis with phenylephrine during the experiments. The observed passive post-capillary pulmonary hypertension with increased central filling pressures was secondary to the left ventricular haemodynamic effects of the acute increase in afterload induced by systemic hypertension. During the experiment, PVR did not change, in agreement with heterogenous¹⁵ α -adrenergic innervation of large (5–7 mm in diameter) and small (2–3 mm in diameter) porcine pulmonary arteries and sparse or non-existent¹⁶ α -adrenergic innervation of swine pulmonary resistance vessels.

Renal effects

The kidney reacted to phenylephrine-induced increase in SVR by a decrease in RBF_c,⁹ while GFR and UF remained unchanged. This suggests that phenylephrine constricted mainly the efferent arteriole and that GFR was maintained, despite a decrease in RBF_c, by an increase in glomerular filtration fraction.¹⁷

Metabolic effects

The baseline values of pNO_x^- were higher than those measured in a porcine model of ARDS (30 $\mu\text{mol litre}^{-1}$).⁷ However, the measurement techniques were different (chemiluminescence vs high-pressure liquid chromatography based on the Griess reaction⁷) and the surgical stress of our procedure may have stimulated release of endogenous NO. Furthermore, reported values for basal concentrations of pNO_x^- (mainly NO_3^-) in humans vary greatly.^{18–20} Our basal values for uNO_x^- were in accordance with those published previously in humans.^{18,20}

EXPERIMENT C

Inhaled NO alone induced no cardiorespiratory modifications, but considerably altered renal function.

Transport of EDRF-NO

Several authors have suggested that EDRF-NO interacts with circulating molecules to regulate its activity, allowing its transport (NO carriers)^{21,22} or promoting its degradation (NO scavengers).²³ Metal nitrosylation with haem and non-haem proteins and the NO reaction with nucleophil groups (e.g. sulphhydryl, amine)²⁴ of amino acids, peptides and proteins lead to the potential interaction and formation of many nitrosyl-haem adducts, *S*-non-protein-nitrosothiols (*S*-nitroso-L-cysteine), *S*-nitrosylated proteins (*S*-nitrosoalbumins,²¹ *S*-nitrosohaemoglobins^{22,23}), nitrosylated iron-sulphur clusters, dinitrosyl-iron complexes,²⁵ nitrosoamines and others.

Renal effects

Renal haemodynamics and diuresis were altered by iNO (experiment C), strongly supporting the presence of extra-pulmonary effects. It is now widely accepted that EDRF-NO is an important modulator of RBF and that regional microcirculation²⁶ may be mediated by endogenously produced EDRF-NO. Pharmacological block of EDRF-NO results in an increase in MAP and renal vascular resistance, and decrements in RBF, GFR, UF and sodium excretion.²⁷ There is some controversy regarding a selective effect of EDRF-NO block on either afferent or efferent arteriolar tone.²⁶ It would seem that EDRF-NO primarily alters afferent vascular tone,²⁸ thereby modifying the ability of the preglomerular vasculature to autoregulate glomerular capillary pressure. Several studies have emphasized an effect of EDRF-NO not only on glomerular but also on tubular function and the medullary circulation.^{28,29} McKee, Scavone and Nathanson³⁰ showed that EDRF-NO, through generation of cGMP and stimulation of cGMP-dependent protein kinase(s), mediates the actions of several intercellular messengers to regulate renal tubular Na-K-ATPase. Inhibition of this sodium pump (e.g. by acetylcholine, bradykinin) would decrease transcellular water and sodium reabsorption from the tubular lumen, resulting in diuresis and natriuresis. Moreover, low doses of NO synthase inhibitors, that have no effect on either RBF or GFR, induce anti-diuretic and antinatriuretic effects.³¹ Here is the first report of exogenous iNO modulating renal function. Renal haemodynamic state may be influenced during iNO administration by circulating NO metabolites (e.g. NO_x⁻),³² renal NO delivery through release from carrier *S*-nitroso compounds (e.g. *S*-nitrosothiols)³³ after nitrosylation in the pulmonary circulation, or a local renal effect owing to an unknown paracrine influence stimulated by iNO. *In vitro* studies have shown that NaNO₂ did not influence renovascular tone in concentrations up to 0.1 mmol litre⁻¹.³³ The diuretic effect of NaNO₃ was observed with a plasma NO₃⁻ concentration of 38 mmol litre⁻¹ in dogs.³² In view of the rapid renal response to application and discontinuation of iNO, we postulate that iNO may be accompanied by non-selective, extra-pulmonary effects caused by local

delivery of NO on peripheral territories that include the renal bed.

95

Metabolic effects

Nitric oxide reaching the circulation can be metabolized via three pathways:²³ (i) interaction with dissolved oxygen in blood to form NO₂⁻, (ii) reaction with oxyhaemoglobin to form methaemoglobin which in turn is reduced back to haemoglobin and NO₃⁻ mainly by the NADPH-methaemoglobin reductase and peroxynitrite pathways, and (iii) combination with deoxyhaemoglobin to form the stable nitrosohaemoglobin (HbNO) or with carrier molecules to form *S*-nitrosothiols among others (see above). However, to date, the mechanisms by which NO is inactivated and eliminated are not fully known.

The concentration of pNO_x⁻ increased almost linearly throughout inhalation, and decreased on cessation of iNO. This result is in agreement with those of previous reports^{19,20} which have shown a linear temporal increase in pNO_x⁻. Approximately 40 μmol of uNO_x⁻ were excreted in urine during the 40-min inhalation period, a result similar to that of Wennmalm and colleagues,¹⁹ and the rate of elimination was maintained over the following 20 min. This implies that 23.6% of the retained NO was excreted in urine as uNO_x⁻ within 1 h after the start of inhalation. This early and fast elimination of iNO corroborates a previous study²⁰ that showed 69% of inhaled ¹⁵NO was excreted in urine as ¹⁵NO₃⁻ within 24 h and another 4% from 24 to 48 h after the start of inhalation. Moreover, the decrease in pNO_x⁻ and maintenance of diuresis and high uNO_x⁻ concentrations after cessation of iNO suggest that NO_x is stored in packaged forms before its release without vasoactive but with diuretic effects, transformation and elimination as NO_x⁻.

EXPERIMENTAL ARM

Cardiovascular effects

Inhaled and i.v. nitregic treatments partially reversed the passive pulmonary hypertension induced by phenylephrine. With the PEHT swine model, iNO 40 ppm was less effective in reducing PAP (50% reversal of the increase) than during hypoxia (108.7% at 40 ppm),⁵ thromboxane-mimetic infusion (61% at 40 ppm),⁶ experimental ARDS (57.1% at 40 ppm)⁷ or sepsis (84% at 10 ppm;² 64.8% at 40 ppm⁴). PVR remained unchanged throughout the experiment suggesting that the pulmonary resistance vasculature was not constricted and that both treatments did not act at this level in the PEHT swine model. Because the pulmonary vascular tone was unchanged by nitregic treatments superimposed on PEHT, baseline gas exchange variables also remained unchanged.

The increase in PAP induced by phenylephrine was adjusted to comparable levels in both groups. Both treatments induced similar decreases in LAP, and consequently PAP and CVP. The decrease in LAP may be explained by a decrease in left atrial

filling, increase in left compliance, decrease in left ventricular afterload or a combination of these effects. The first hypothesis is unlikely because CO did not change and there was no clinical sign of an increase in lung water as gas exchange variables remained constant. The second assumption implies, from the formed cGMP,¹ block of α_1 effects on cardiac contraction and relaxation,³⁴ and a positive lusitropic effect increasing relaxation and diastolic distensibility of the heart.³⁵ A direct cardiac effect of endothelium-independent nitrovasodilators, such as depressed myocardial contractility,³⁶ improved ventricular relaxation and diastolic distensibility³⁷ is accepted. The decrease in systemic afterload (third postulate) was manifest with ivGTN infusion which induced a substantial decrease in SVR. An endogenous EDRF-NO signalling pathway has been found to regulate cardiac myocyte function.³⁸ The paracrine actions of EDRF-NO stimulated by substance P or bradykinin, particularly on left ventricular relaxation, are also well established.³⁹ The second and third hypotheses imply extra-pulmonary effects with iNO. In a previous study,⁵ we suggested that iNO had a direct cardiac effect. There was a slight modification of left ventricular afterload with iNO, as the observed decreases in SAP and MAP were statistically significant (LSD_F: $P=0.0001$ and $P=0.004$, respectively) (table 2). We propose that iNO had a direct cardiac effect to explain the similar action of ivGTN and iNO on PAP, LAP and CVP. Our data indicate a larger decrease in SAP and MAP than that for DAP, suggesting that factors other than aortic compliance or SVR are modified by iNO. These other factors are usually related to changes in the mechanical performance of the heart as a pump.⁴⁰ A trend for iNO to decrease SVR or MAP was observed in several publications.^{2,3,7}

Renal effects

In experiments D and E, nitrenergic treatments superimposed on phenylephrine infusion resulted in increases in UF without reversing the phenylephrine-induced decrease in RBFc. The primary phenylephrine site of action in the kidney seems to be the efferent arteriole in contrast with the afferent arteriole for EDRF-NO. This could explain the lack of reversibility for the decrease in RBFc induced by phenylephrine for both nitrenergic treatments. Our findings also support a direct diuretic (and natriuretic?) effect of exogenous NO. Another hypothesis is the involvement of regulatory systems, either intrarenal such as the kallikrein-kinin system or prostaglandins (PGE₂), or extrarenal such as atrial natriuretic factor (ANF) or the ouabain-like endogenous factor that increase diuresis.⁴¹ However, EDRF-NO released from the endocardium or from the endothelial cells of the coronary vasculature, directly or through a decrease in LAP, or both, inhibits the release of ANF.⁴² The results of experiment C and those from another study³³ give greater credence to intervention of exogenous NO in packaged forms.

Inhaled NO had a major effect on the kidney and a slight (on SAP and MAP) or no statistically apparent

(on DAP and SVR) systemic effect. The kidney could be more sensitive to exogenous NO than the systemic circulation as demonstrated by the high sensitivity of RBF to NO synthase inhibition.⁴³ Indeed, the renovasculature showed significant modifications with low quantities of NO. Another hypothesis is that the kidney could more easily concentrate NO carriers or recuperate NO from its transport forms (local catabolism of S-nitroso compounds such as S-nitrosoglutathione, etc). The persistent diuresis after discontinuing PEHT and nitrenergic treatments (stage IV) was in agreement with previous data.^{32,33} It correlated with the persistent high pNO_x⁻ and uNO_x⁻ concentrations in experiment D or previous hypotheses such as intervention of other regulatory systems or a particular renal sensitivity to NO carriers for experiments C and E. It would imply that NO transported via GTN and that transported when NO is inhaled have similar (on the heart and kidney) and different (on the systemic circulation) effects. These could be explained by the nature of the implied packaged forms and their respective metabolism, particularly biotransformation of GTN to NO.

Metabolic effects

Because we deproteinized the plasma samples, NO (from iNO or released by GTN)-derived metabolites (NO₂⁻ and NO₃⁻) and GTN-derived metabolites (1,3- and 1,2-glyceryl dinitrate, and glyceryl mononitrate) were potentially measured as pNO_x⁻. At the end of stage III, infusion of ivGTN significantly increased arterial and venous pNO_x⁻ concentrations (table 3), and we observed only a statistical trend for iNO to increase pNO_x⁻ concentrations. This difference could be explained by a greater NO_x intake for ivGTN than for iNO and the larger number of metabolites of GTN. Other studies found significant differences in pNO_x⁻ concentrations between baseline and iNO treatment^{7,19,20} with a longer period of inhalation and larger sample size.

During stage IV, pNO_x⁻ concentrations remained high in experiment D (ivGTN), but decreased in experiment E (iNO), whereas uNO_x⁻ concentrations remained high in all experiments. NO might be released during stage IV from its carrier proteins with diuretic and without vasoactive effect, and metabolized in NO_x⁻. Moreover, GTN-derived metabolites could be present at the end of stage IV and measured as NO_x⁻. The absence of haemodynamic effects of these compounds during stage IV could be explained by their low potency or the nitrate tolerance phenomenon. The explanation for the pNO_x⁻ decrease in experiment E is disruption of iNO administration.

In summary, previous studies have shown clearly a marked effect of iNO on pulmonary hypertension in pulmonary vasoconstriction models. Furthermore, in the passive PEHT model without pulmonary vasoconstriction, iNO maintained its pulmonary antihypertensive property. These results suggest that iNO may have direct cardiac effects. This study also demonstrated a marked effect of iNO on renal function, similar to that of ivGTN. We conclude that

iNO had extra-pulmonary effects in an *in vivo* swine model and consequently that iNO cannot be considered as a pure selective agent on the pulmonary vasculature.

Acknowledgments

This work was funded by the Medical Research Council of Canada, and the Nitric Oxide Research Foundation. Dr Éric Troncy is a PhD scholar in the biomedical sciences of Université de Montréal and a Doctorat ès sciences scholar in pharmacology of Université Louis Pasteur in Strasbourg (France), and the recipient of grants from Faculté des Études Supérieures of Université de Montréal, Rhône-Alpes region (France) Eurodoc programme and Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche in France.

References

- Ignarro LJ, Lippton HL, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside, and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1981; **218**: 739-749.
- Weitzberg E, Rudehill A, Lundberg JM. Nitric oxide inhalation attenuates pulmonary hypertension and improves gas exchange in endotoxin shock. *European Journal of Pharmacology* 1993; **233**: 85-94.
- Frostell CG, Blomqvist H, Hedenstierna G, Lundberg J, Zapol WM. Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 1993; **78**: 427-435.
- Ogura H, Cioffi WG, Offner PJ, Jordan BS, Johnson AA, Pruitt BAJ. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary function after sepsis in a swine model. *Surgery* 1994; **116**: 313-321.
- Troncy E, Jacob E, Peres da Silva E, Ducruet T, Collet J-P, Salazkin I, Charbonneau M, Blaise G. Comparison of the effect of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerin on hypoxia-induced pulmonary hypertension in pigs. *European Journal of Anaesthesiology* 1996; **13**: 521-529.
- Van Obbergh LJ, Charbonneau M, Blaise G. Combination of inhaled nitric oxide with intravenous nitroglycerin or with prostacyclin (PGI₂) in the treatment of experimental pulmonary hypertension. *British Journal of Anaesthesia* 1996; **77**: 227-231.
- Shah NS, Nakayama DK, Jacob TD, Nishio I, Imai T, Billiar TR, Exler R, Yousem SA, Motoyama EK, Peitzman AB. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Archives of Surgery* 1994; **129**: 158-164.
- Blaise G, To Q, Parent M, Lagarde B, Asenjo F, Sauvé R. Does halothane interfere with the release, action, or stability of endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide? *Anesthesiology* 1994; **80**: 417-426.
- American Society of Hospital Pharmacists. Phenylephrine hydrochloride. In: McEnvoy GK, ed. *AHFS 95 Drug Information* (American Hospital Formulary Service). Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists Inc., 1995; 842-845.
- Dubé L, Francœur M, Troncy E, Carrier R, Blaise G. Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1995; **42**: 922-927.
- Bratton AC, Marshall EKJ. A new coupling component for sulfanilamide determination. *Journal of Biological Chemistry* 1939; **128**: 537-550.
- Navar LG, Bell PD, White RW, Watts RL, Williams RH. Evaluation of the single nephron glomerular filtration coefficient in the dog. *Kidney International* 1977; **12**: 137-149.
- Fan Y, Troncy E, Francœur M, Vinet B, Vinay P, Czaika G, Blaise G. Effects of reducing reagents and temperature on conversion of nitrite and nitrate to nitric oxide and detection of NO by chemiluminescence. *Clinical Chemistry* 1997; **43**: 657-662.
- McGrath JC, Brown CM, Wilson VG. Alpha-adrenoceptors: a critical review. *Medicinal Research Reviews* 1983; **9**: 407-533.
- Zellers TM, Vanhoutte PM. Heterogeneity of endothelium-dependent and independent responses among large and small porcine pulmonary arteries. *Pulmonary Pharmacology* 1989; **2**: 201-208.
- Hebb C. Motor innervation of the pulmonary blood vessels of mammals. In: Fishman AP, Hecht HH, eds. *The Pulmonary Circulation and Interstitial Space*. Chicago: University of Chicago Press, 1969; 195-217.
- MacAllister R, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology* 1994; **5**: 1057-1065.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnock JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry* 1982; **126**: 131-138.
- Wennmalm Å, Benthin G, Edlund A, Jungersten L, Kierler-Jensen N, Lundin S, Westfelt UN, Petersson A-S, Waagstein F. Metabolism and excretion of nitric oxide in humans: An experimental and clinical study. *Circulation Research* 1993; **73**: 1121-1127.
- Westfelt UN, Benthin G, Lundin S, Stenqvist O, Wennmalm Å. Conversion of inhaled nitric oxide to nitrate in man. *British Journal of Pharmacology* 1995; **114**: 1621-1624.
- Stamler JS, Jaraki O, Osborne J, Simon DI, Keaney JFJ, Vita J, Singel D, Valeri CR, Loscalzo J. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1992; **89**: 7674-7677.
- Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS. S-nitroso-hemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature (London)* 1996; **380**: 221-226.
- Lancaster JR jr. Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1994; **91**: 8137-8141.
- Diodati JG, Quyyumi AA, Keefer LK. Complexes of nitric oxide with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide: Hemodynamic effect in the rabbit. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1993; **22**: 287-292.
- Mülsch A, Mordvintcev PI, Vanin AF, Busse R. Formation and release of dinitrosyl iron complexes by endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; **196**: 1303-1308.
- Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney: Synthesis, localization, and function. *American Journal of Kidney Diseases* 1994; **24**: 112-129.
- Brown SA. Effects of inhibition of nitric oxide synthase on systemic arterial pressure and renal vascular resistance in cats. *Research in Veterinary Science* 1993; **55**: 398-400.
- Ito S. Nitric oxide in the kidney. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 1995; **4**: 23-30.
- Radermacher J, Klanke B, Schurek HJ, Stolte HF, Froelich JC. Importance of EDRF/NO for glomerular and tubular function: Studies in the isolated perfused rat kidney. *Kidney International* 1992; **41**: 1549-1559.
- McKee M, Scavone C, Nathanson JA. Nitric oxide, cGMP, and hormone regulation of active sodium transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1994; **91**: 12056-12060.
- Mattson DL, Lu S, Nakanishi K, Papanek PE, Cowley AWJ. Effect of chronic renal medullary nitric oxide inhibition on blood pressure. *American Journal of Physiology* 1994; **266** (5 Pt 2): H1918-1926.
- Zeballos GA, Bernstein RD, Thompson CI, Forfia PR, Seyedi N, Shen W, Kaminski PM, Wolin MS, Hintze TH. Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs. *Circulation* 1995; **91**: 2982-2988.
- Kaufmann MA, Castelli I, Pargger H, Drop LJ. Nitric oxide dose-response study in the isolated perfused rat kidney after inhibition of endothelium-derived relaxing factor synthesis: The role of serum albumin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1995; **273**: 855-862.
- Shah AM, Evans HG, Lewis MJ. Phenylephrine-induced cardiac phosphatidylinositol (PI) hydrolysis is inhibited by cyclic GMP. *Circulation* 1990; **82** (Suppl. III): III-270 (1073).

35. Brutsaert DL, Sys SU. Relaxation and diastole of the heart. *Physiological Reviews* 1989; **69**: 1228-1315.
36. Brodie BR, Cuck L, Klausner S, Grossman W, Parmley W. Effects of sodium nitroprusside and nitroglycerin on tension prolongation of cat papillary muscle during recovery from hypoxia. *Circulation Research* 1976; **39**: 596-601.
37. Paulus WJ, Vantrimpont PJ, Shah AM. Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and diastolic distensibility in humans: Assessment of bicoronary sodium nitroprusside infusion. *Circulation* 1994; **89**: 2070-2078.
38. Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1993; **90**: 347-351.
39. Kelly RA, Balligand J-L, Smith TW. Nitric oxide and cardiac function. *Circulation Research* 1996; **79**: 363-380.
40. Folkow B, Heymans C, Neil E. Integrated aspects of cardiovascular regulation. In: Hamilton WF, Dow P, eds. *Handbook of Physiology, Section 2: Circulation, volume 9B*. Washington, DC: American Physiological Society, 1965; 1787-1823.
41. Baillet J, Nortier E. Système rénal autorégulé et maillon régulateur asservi. In: Baillet J, Nortier E, eds. *Précis de Physiologie humaine*. Paris: Ellipses, 1992; 354-359.
42. Lorenz RR, Sanchez-Ferrer CF, Burnett JC, Vanhoutte PM. Influence of endocardial-derived factor(s) on the release of atrial natriuretic factor. *FASEB Journal* 1988; **2**: 1293.
43. Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S. Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1990; **15**: 486-492.

7.0 Étude clinique humaine sur l'efficacité du monoxyde d'azote inhalé sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité des patients atteints du syndrome de détresse respiratoire aiguë.

L'article de revue précédent (pages 63 à 68) détaille les raisons pour lesquelles le NO inhalé fut considéré comme un potentiel atout majeur du traitement du SDRA, particulièrement après la publication de premiers rapports enthousiastes. Il souligne toutefois les nombreux biais méthodologiques auxquels furent sujettes ces mêmes études. Pour cette raison, nous avons conduit un essai clinique préliminaire, randomisé avec groupe contrôle, sur des patients souffrant de SDRA afin d'évaluer (1) l'efficacité du NO inhalé sur la fonction pulmonaire ; (2) l'impact du NO inhalé sur la morbidité et la mortalité du SDRA, et (3) la faisabilité de réaliser une large étude multicentrique sur ces mêmes paramètres.

7.1 Lettre de recherche : Doit-on traiter le syndrome de détresse respiratoire aiguë avec le monoxyde d'azote inhalé ?

Ce type de publication propose sous un format et dans un laps de temps réduits les résultats fondamentaux de l'étude. Considérant la notoriété de la revue, il permet une visibilité maximale de nos travaux dans le milieu médical. Il n'empêche pas non plus, dépendant de la politique de la revue concernée, la publication des résultats complets sous la forme d'un article original de recherche.

THE LANCET¹⁰⁰

Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide?

Eric Troncy, Jean-Paul Collet, Stan Shapiro, Jean-Gilles Guimond, Louis Blair, Marc Charbonneau, Gilbert Blaise

Reprinted from THE LANCET Saturday 12 July 1997
Vol. 350 No.9071 Page 111

Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide?

101

Eric Troncy, Jean-Paul Collet, Stan Shapiro, Jean-Gilles Guimond, Louis Blair, Marc Charbonneau, Gilbert Blaise

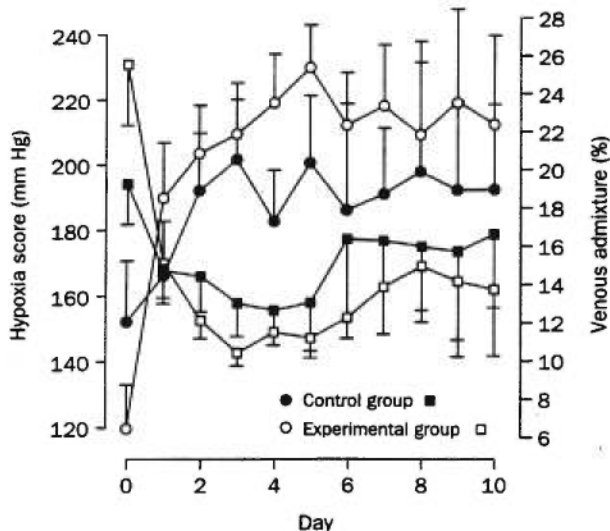
Since the first enthusiastic reports of Rossaint et al¹ and Gerlach et al² (respective survival rate of 80 and 100%), and despite the recommendations of the American-European acute respiratory distress syndrome (ARDS) consensus,³ no study has been appropriately designed to address the clinical outcome of ARDS patients treated with inhaled nitric oxide (NO). This pilot randomised controlled clinical trial of ARDS patients was implemented to study the efficacy of inhaled NO on lung function; the impact of inhaled NO on morbidity and mortality; and the feasibility of conducting a large multicentre trial.

30 established ARDS (with lung injury score⁴ ≥ 2.5) patients were randomly allocated to usual care or usual care plus inhaled NO. All therapeutic interventions were standardised. Lung function was assessed by hypoxia score (PaO₂/FiO₂), dead space ventilation, lung compliance, and venous admixture. The optimal dose of NO (ie, the lowest dose that produced the greatest improvement in hypoxia score) was determined daily between 0.5 and 40 parts-per-

detected whereas studied indices were never affected by usual care in the control group (figure).

40% of patients treated with NO were alive and weaned from mechanical ventilation 30 days after randomisation compared with 33.3% in the control group ($p=0.83$). Although the subgroup of survivors treated with NO showed a 20% reduction in the duration of mechanical ventilation compared with controls (10.8 [1.2] vs 12.8 [4.2] days, respectively), the difference was not statistically significant ($p=0.44$). The 30-day mortality rate was similar in the two groups: 60% in patients treated with NO versus 53.3% without NO ($p=0.71$); most deaths (11/17) were due to multiple organ dysfunction syndrome. Of the five direct lung injury-induced ARDS, one of three died in the control group compared with none of two in the NO group. The 30-day mortality rate of non-responders and responders to NO was 80% and 50%, respectively.

Our trial shows that inhaled NO in this population may improve initial gas exchange but does not affect mortality, and questions whether the aetiology of ARDS is important for prognosis. After the initial improvement, the maintenance of lung indices to the same level suggests that NO was not more efficient, nor deleterious. However, the potential toxicity of inhaled NO at therapeutic concentrations should be the focus of future studies. Although our sample was representative of a population with sepsis-induced established ARDS resulting in multiple organ dysfunction syndrome, this pilot study suggests that an effect of inhaled NO on ARDS-mortality in this population would be difficult to achieve even with a large multicentre trial. In these conditions, further studies should concentrate on preventive or early treatment (when the condition is more likely to be reversible) and on the use of inhaled NO in selected populations such as patients with ARDS induced by direct lung injury (in the studies done by Rossaint et al¹ and Gerlach et al² the survival rate of these patients with NO was high: 10/13) or those responsive to the therapy whatever the aetiology. These populations should benefit the most from the use of NO with a possible effect not only on gas exchange but also on mortality.



Comparison of follow-up effects (until day 10) in control and experimental (inhaled NO) groups on hypoxia score and venous admixture

The circles are for the hypoxia score, the squares for the venous admixture.

million (ppm). Non-responders to NO were defined as patients with at least 20% increase in hypoxia score after initial optimal NO administration.

ARDS resulted mainly from sepsis (25/30). Observed baseline characteristics were similar between groups except for the mean hypoxia score that was lower in the NO than in the control group: 119.4 (SE 13.6) and 152.1 (18.5) mm Hg, respectively. During the first day, the hypoxia score increased in patients treated with a mean dose of 8.5 (2.6) ppm NO (+70.4 mm Hg [+59%]) vs +14.2 mm Hg [+9.3%] for control group [$p=0.02$], and venous admixture decreased from 25.7 to 15.2% in the NO group (19.4 to 14.9% in the control group [$p=0.05$]). Five of 15 patients were non-responders with no difference in initial mean hypoxia score between responders and non-responders. After the first day of therapy, no further beneficial effect of NO, at a mean dose of 5.6 (1.8) ppm for a mean treatment duration of 8.1 (1.3) days, could be

This study was supported by grant MRC-MA 12425 from the Medical Research Council of Canada, and a Burroughs Wellcome Inc bursary from the Canadian Anaesthetists' Society. We thank the nursing, respiratory, and medical staff of the intensive care units in Centre Hospitalier de l'Université de Montréal-Pavillon Notre-Dame, and M Francœur, T Ducruet, and S Charneau.

- Rossaint R, Falke KJ, López FA, Slama K, Pison U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1993; 328: 399-405.
- Gerlach H, Pappert D, Lewandowski K, Rossaint R, Falke KJ. Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1993; 19: 443-49.
- Bernard GR, Arugas A, Brigham KL, et al. The American-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 818-24.
- Murray JF, Matthay MA, Luce JM, Flick MR. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 720-23.

Laboratoire d'Anesthésie/Anaesthesia Laboratory, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal Pavillon Notre-Dame, Montréal, Québec H2L 4M1, Canada (G Blaise); Department of Medicine, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal; and Centre for Clinical Epidemiology and Community Studies, Sir Mortimer B Davis, Jewish General Hospital, McGill University, Montréal

7.2 Article original : Monoxyde d'azote inhalé dans le syndrome de détresse respiratoire aiguë - une étude pilote randomisée avec groupe contrôle.

La publication de cet article couronne près de cinq années d'efforts consentis par le laboratoire d'Anesthésie dans le but de réaliser la première étude randomisée avec groupe contrôle portant sur le SDRA et les effets, initiaux et suivis dans le temps jusqu'à trente jours post randomisation, du NO inhalé sur la fonction pulmonaire (oxygénation, paramètres ventilatoires et hémodynamiques pulmonaires), la morbidité et la mortalité de la maladie.

"... To attempt to learn by lectures only is idle and unprofitable; take them as guides to direct your observation, your reading, your meditation; but to suppose that the mere listening to lectures should confer excellence would not be less futile than for a traveller to bestride a guide-post and vainly expect that it should, without effort on his part, convey him to the destination to which it points." — The Lancet, Nov. 5, 1825:

p. 213.

Inhaled Nitric Oxide in Acute Respiratory Distress Syndrome

A Pilot Randomized Controlled Study

ERIC TRONCY, JEAN-PAUL COLLET, STAN SHAPIRO, JEAN-GILLES GUIMOND, LOUIS BLAIR, THIERRY DUCRUET, MARTIN FRANÇŒUR, MARC CHARBONNEAU, and GILBERT BLAISE

Department of Anesthesia, Department of Medicine, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Campus Notre Dame, and Department of Epidemiology and Biostatistics, The Sir Mortimer B. Davis Jewish General Hospital, McGill University, Montréal, Québec, Canada

This pilot randomized controlled clinical trial of patients with ARDS was implemented to study the impact of inhaled nitric oxide (inhNO) on lung function, morbidity, and mortality. Thirty patients with ARDS were randomly allocated to usual care or usual care plus inhNO. The optimal dose of inhNO was determined to be between 0.5 and 40 parts-per-million daily. All therapeutic interventions were standardized. ARDS resulted mainly from sepsis (25 of the 30). During the first 24 h, the hypoxia score increased greatly in patients treated with inhNO +70.4 mm Hg (+59%) versus +14.2 mm Hg (+9.3%) for the control group ($p = 0.02$), venous admixture decreased from 25.7 to 15.2% in the inhNO group, and from only 19.4 to 14.9% in the control group ($p = 0.05$). After the first day of therapy no further beneficial effect of inhNO was detected. Forty percent of the patients treated with inhNO were alive and weaned from mechanical ventilation within 30 d after randomization compared with 33.3% in the control group ($p = 0.83$). The 30-d mortality rate was similar in the two groups; most deaths (11 of 17) were due to multiple organ dysfunction syndrome. This study shows that inhNO, in this population, may improve gas exchange but does not affect mortality. **Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, Guimond J-G, Blair L, Ducruet T, Franceur M, Charbonneau M, Blaise G. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: a pilot randomized controlled study.**

AM J RESPIR CRIT CARE MED 1998;157:1483-1488.

Initially viewed solely as a surfactant abnormality, identical to that seen in neonatal respiratory distress syndrome (1), acute respiratory distress syndrome (ARDS) in adults is now considered as an inflammatory disorder that transcends pulmonary lesions and includes involvement of the microvasculature in multiple organ systems (2). It is characterized by diffuse radiographic pulmonary infiltrates because of an increased alveolocapillary permeability (3).

The pulmonary lesion is mainly due to an inflammatory interaction between platelets, leukocytes, mononuclear cells, macrophages, and endothelial cells, where oxidative stress is prominent (4). The clinical signs include refractory hypoxemia, mainly because of ventilation/perfusion mismatching, and important right-to-left shunting, high pulmonary arterial pressure often associated with right ventricular dysfunction, noncardiogenic pulmonary edema, and decreased lung com-

pliance with few recruitable lung units (3). If the landmark work of Murray and colleagues (3) helped establish a universal definition of ARDS, the report of the American-European consensus conferences on ARDS (2) outlined the heterogeneity of populations and nonuniformity of therapy, therefore making it difficult to identify outcome predictors.

Nitric oxide (NO) is a vasodilator whose main mechanism of action is the stimulation of soluble guanylate cyclase and the production of cyclic guanosine monophosphate. It also inhibits platelet (5) and leukocyte (6) activation and adhesion and their production of active intermediates (7). As previously demonstrated, local effects of inhaled NO (inhNO) on pulmonary hypertension and consequently right ventricular dysfunction, oxygenation (8), inflammation (9), or pulmonary edema (10) argue for its use in ARDS. Moreover, the extrapulmonary effects of inhNO, i.e., platelet activation (11) and cardiac (12) and renal (13) protective effects could also be helpful for the treatment of patients with ARDS. All these effects are likely to decrease ARDS mortality.

Since the first enthusiastic reports of Rossaint and colleagues (8), and Gerlach and coworkers (14) (respective survival rate of 80 and 100%), and despite the recommendations of the American-European ARDS consensus (2), no study has been appropriately designed to address the clinical outcome of patients with ARDS treated with inhNO. Most of the previous reports on the use of inhNO in ARDS were small case series or crossover designs comparing different therapeutics (8, 12, 14-17). Results from both types of studies were very lim-

(Received in original form July 19, 1997 and in revised form December 15, 1997)

Supported by Grant MRC-MA 12425 from the Medical Research Council of Canada, and by a Burroughs Wellcome Inc. bursary from the Canadian Anaesthetists' Society.

Dr. Troncy is the recipient of grants from Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal, Rhône-Alpes region Eurodoc program, and Heart and Stroke Foundation of Canada Research Traineeship Program.

Correspondence and requests for reprints should be addressed to Gilbert Blaise, M.D., D.A.C.A., Director, Laboratory of Anesthesia, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Campus Notre Dame, 1560 Sherbrooke St. East, Montréal, PQ, H2L 4M1 Canada.

Am J Respir Crit Care Med Vol 157, pp 1483-1488, 1998

ited because of selection bias and the absence of a control group followed in parallel. Crossover design also has some major limitations when the condition is not stable in time, and death is frequent. To our knowledge, this is the first report of a randomized controlled trial of patients with ARDS treated with inhNO that addresses its efficacy, not only on gas exchange but also on mortality. The objectives of the trial were to determine: (1) the efficacy of inhNO on lung function; (2) the impact of inhNO on morbidity and mortality; (3) the chances of success and necessary conditions for implementing a larger multicenter trial.

METHODS

Protocol

This study was approved by the Human Research and Ethics Committee of the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, and was in accordance with the 1975 Helsinki Declaration. From October 1994 to August 1995, all patients 18 to 75 yr of age suffering from ARDS (the lung injury score [LIS] ≥ 2.5 of Murray and colleagues) hospitalized in the medical or surgical intensive care units (ICU) were included in the study. Pregnant women, patients with cardiogenic pulmonary edema (pulmonary capillary wedge pressure > 18 mm Hg), or with severe immunodepression from end-stage neoplasia were excluded. Written informed consent was obtained from a close relative. Patients were then randomized to receive either usual care (control group) or usual care plus inhNO (experimental group).

Severity scoring systems (APACHE II [18] and LIS) were calculated for each patient at randomization (Day 0). Patients in both groups were mechanically ventilated following a standardized protocol applied for the fraction of inspired oxygen ($F_{I_{O_2}}$), tidal volume (V_t), ventilatory mode, and positive end-expiratory pressure (PEEP). Sedation, curarization, intravenous perfusion, blood transfusion, parenteral or enteral feeding were also standardized (clinical protocols are available upon request from us). All patients had arterial lines and pulmonary arterial catheters in place for continuous monitoring and blood sampling purposes. Pulse oximetry, end-tidal carbon dioxide tension (P_{ETCO_2}) were also continuously monitored. Arterial blood gases and pH and pulmonary and systemic hemodynamic parameters were measured at least once every 8 h, whereas venous blood gases, methemoglobinemia, cardiac output, and cardiopulmonary profiles were obtained at least daily.

Therapeutic success was defined as successful weaning from mechanical ventilation with extubation within 30 d after inclusion in the study. Briefly, all patients, whether ventilated with pressure-controlled or conventional ventilatory volumetric SIMV (synchronized intermittent mandatory ventilation) mode were weaned with progressive decrease in SIMV rate supplemented with pressure support. Afterwards, if patients maintained the usual clinical parameters with pressure support ≤ 10 cm H₂O, PEEP ≤ 5 cm H₂O, and $F_{I_{O_2}} \leq 0.5$ they were extubated. This protocol was applied in a similar manner to all patients in the study. Therapeutic failure was defined as death before 30 d or pursuit of mechanical ventilation (patient always intubated) from Day 31 onwards. Lung function status was assessed by the hypoxia score ($HS = Pa_{O_2}/F_{I_{O_2}}$), alveolar dead space ($V_{DA}/V_T = 1 - [P_{ETCO_2}/Pa_{CO_2}]$), lung compliance ($CL = V_T/[P_{peak} - \text{totalPEEP}]$), and venous admixture [$\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}_T = 100 \times (Cc_{O_2} - Ca_{O_2})/(Cc_{O_2} - Cv_{O_2})$] (Pa_{O_2} , Pa_{CO_2} : partial pressures of arterial oxygen and carbon dioxide; P_{peak} : peak airway pressure; Cc_{O_2} , Ca_{O_2} , and Cv_{O_2} : capillary, arterial, and venous oxygen contents). Nonresponders to inhNO were defined as patients presenting a $\leq 20\%$ increase in HS after initial optimal inhNO administration. All patients, responders and nonresponders, were included in the statistical analysis.

Inhaled NO Administration

Cylinders contained 900 ppm of NO in N₂ gas (Air Liquide Ltée., Montréal, PQ, Canada) with NO₂ < 5 ppm. The NO/N₂ mixture was cyclically injected into the inspiratory line of the mechanical ventilator (7200; Puritan-Bennett Inc., Carlsbad, CA) using an inhNO administration system developed at our institution (19). The fractions of inspired NO (F_{INO}) and NO₂ (F_{INO_2}) delivered to the patients were mea-

sured electrochemically (Polytron NO, NO₂; Dräger AG, Lübeck, Germany). The calibration of the electrochemical device was performed at least weekly, and validated with chemiluminescence (CLD 700 AL NO/NOx analyzer; Ecophysics Tecan AG, Dürten, Switzerland).

Optimal F_{INO} Determination

In the experimental group, the lowest F_{INO} that produced the greatest improvement in Pa_{O_2} was determined every day (optimal F_{INO} = minimal dose with maximal efficacy on Pa_{O_2}). During the determination of optimal F_{INO} , no treatment or procedure susceptible of changing the arterial oxygenation or the hemodynamic status (defined as inhNO evaluative parameters) was allowed.

Initial Optimal F_{INO} Determination

The initial F_{INO} was 2.5 ppm. The parameters were collected immediately before (baseline values) and 10 min after introduction of inhNO. The value of F_{INO} was then increased stepwise according to the following pattern of concentrations: 5, 10, 20, 30, and up to a maximum of 40 ppm. The decision to increase F_{INO} was directed by the observed changes in Pa_{O_2} assessed 10 min after the modification of F_{INO} . Basically, F_{INO} was increased until the increase in Pa_{O_2} was smaller than 5% from the previous assessment. Theoretically, if there was no beneficial effect with all doses tested (2.5 to 40 ppm), F_{INO} was kept at 5 ppm, but this situation never occurred. Once determined, initial optimal F_{INO} was kept unchanged for 24 h.

Daily Optimal F_{INO} Determination

Every morning F_{INO} was decreased stepwise following the same pattern; below 2.5 ppm the two stages were 1 and 0.5 ppm, down to 0 ppm if possible. Similarly, Pa_{O_2} was collected 10 min after each modification, and the decrease in F_{INO} was stopped when it induced a larger than 5% decrease in Pa_{O_2} . In that case the previous F_{INO} was kept for 24 h. If the first decrease in F_{INO} induced a fall in Pa_{O_2} by more than 5%, effects of higher F_{INO} were determined stepwise, as previously described.

Inhaled NO Weaning

In the eventuality that no beneficial effects with inhNO was observed for the first 2 d, we had anticipated to withdraw the therapy. Daily optimal F_{INO} determination, through regular reverse dose-response assessments, allowed patients to be gradually weaned from inhNO. The patients had the criteria to be weaned from inhNO treatment if they maintained a $Pa_{O_2} \geq 70$ mm Hg with $F_{I_{O_2}} \leq 0.4$ and PEEP ≤ 8 cm H₂O during the daily optimal F_{INO} determination at 0 ppm F_{INO} for two consecutive days.

Inhaled NO Reintroduction

After successful weaning, treatment was resumed if the pulmonary status deteriorated. Criteria for reintroduction were: $F_{I_{O_2}} > 0.4$, PEEP > 10 cm H₂O, and $Pa_{O_2} \leq 60$ mm Hg. Initial optimal F_{INO} was determined as previously described.

Statistical Analysis

For the comparison between groups, we distinguished two phases to separate the initial effect of inhNO (8, 20) from its remaining effect during prolonged administration. The initial response to inhNO was defined as the difference between the baseline value and the value measured under initial optimal F_{INO} . The follow-up effect was assessed by the rate of change from Day 1 to the last day of follow-up. Differences in lung function were determined first by examining the appropriateness of fitting linear regression slope for each individual patient, second by estimating the linear slope for each individual patient, third by weighting the individual slopes according to the precision with which they were estimated, and finally by comparing the difference between the inhNO and control group mean slopes using Student's *t* test (SAS for Windows™, release 6.11; SAS Institute Inc., Cary, NC). The appropriateness of the linear approximation was determined by adding a quadratic term to the model for an individual patient's lung function and examining whether the addition provided a statistically significant improvement in fit. Because patients could

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF RANDOMIZED PATIENTS IN THE CONTROL AND EXPERIMENTAL (INHALED NO) GROUPS*

	Control Group (n = 15)	Inhaled NO Group (n = 15)
Age, yr	54.8 ± 3.7	55.7 ± 3.6
Sex, % male	60.0	66.7
Smoker, %	46.6	53.3
Alcoholism, %	20.0	26.6
APACHE II score ¹	23.2 ± 1.4	27.4 ± 2.6
Hypoxia score, mm Hg ¹	152.1 ± 18.5	119.4 ± 13.6
LIS ²	2.86 ± 0.1	2.92 ± 0.1

* Variables reported as mean ± SE.

¹ Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II score according to Knaus et al. (18).

¹ Hypoxia score = PaO₂/F_IO₂.

² Murray's Lung Injury Score (3).

contribute different numbers of observations to the estimation of their respective slopes, not all individual slopes were estimated with the same precision. In order to account for this, individual slopes were weighted inversely proportional to the square of standard error (1/SE²) when they were combined to obtain an average slope. The therapeutic success rates in each group were compared using a log-rank test. For the primary analysis, an intention to treat approach was used. Those patients who died were assigned the maximum possible length of ventilation, 30 d. Subsequent analysis examined outcomes in the subgroups of patients who remained alive for the duration of the follow-up. Data are expressed as mean ± SE.

RESULTS

Patients

Thirty patients with ARDS were randomized, 15 to each of the experimental and control groups. Established ARDS was present in 13 medical and 17 surgical ICU patients. No trauma-induced ARDS was noted during the study period. Twelve patients in the control group, and 13 in the experimental group were septic, and all others recruited resulted from direct lung injury (infectious pneumonia, aspiration, or toxic in-

TABLE 2
INITIAL HEMODYNAMIC AND RESPIRATORY EFFECTS OF INHALED NO*

	Baseline ¹ (n = 15)	With Initial Optimal F _I NO (n = 15)	p Value ¹
Ppa, mm Hg ¹	30.2 ± 1.2	26.9 ± 1.3	0.0054
Psa, mm Hg	75.1 ± 3.1	76.5 ± 3.2	0.2067
HR, beats/min	97.9 ± 4.4	96.4 ± 4.7	0.2851
PaO ₂ , mm Hg	78.7 ± 3.8	130.7 ± 15.7	0.0025
SaO ₂ , %	93.9 ± 0.7	97.2 ± 0.5	0.0001
pHa	7.36 ± 0.02	7.38 ± 0.02	0.0025
PaCO ₂ , mm Hg	43.3 ± 1.4	40.1 ± 1.4	0.0001
HCO ₃ ⁻ , mmol/L	24.9 ± 1.2	24.2 ± 1.2	0.0217
PETCO ₂ , mm Hg	31.1 ± 1.4	30.6 ± 1.4	0.7683
VDA/V _T , %	29 ± 2	24 ± 3	0.0206
aaPO ₂ , mm Hg	354.4 ± 31.4	305.8 ± 30.9	0.0037
Initial F _I NO, ppm	0	8.5 ± 2.6	

Definition of abbreviations: Ppa = mean pulmonary arterial pressure; Psa = mean systemic arterial pressure; HR = heart rate; SaO₂ = arterial hemoglobin saturation in oxygen; pHa = arterial pH; HCO₃⁻ = actual bicarbonate rate; PETCO₂ = end-tidal carbon dioxide tension; VDA/V_T = alveolar dead space; aaPO₂ = alveolar-arterial oxygen difference; initial F_INO = mean value of the fraction of inspired nitric oxide that produced the maximum effect on PaO₂ (all other variables, including F_IO₂ and PEEP, were maintained constant during evaluation of the effects of the initial optimal F_INO).

* Variables reported as mean ± SE.

¹ Baseline values collected just before (F_INO = 0 ppm) starting the administration of inhNO.

¹ p Value of the difference between initial optimal F_INO and baseline values.

halation). The two groups were similar with regard to most baseline demographic and prognostic variables (Table 1). Patients treated with inhNO, however, were on average slightly more sick, with a HS that was lower, and an APACHE II score that was higher, than patients in the control group.

Initial Effects of inhNO

The initial optimal F_INO decreased pulmonary arterial pressure without changing systemic arterial pressure and heart rate (Table 2). Inhaled NO significantly improved the gas exchange parameters: increases in PaO₂ by 66.2% (p = 0.0025) and H⁺ concentration by 4.5% (p = 0.0025); decreases in PaCO₂ by 7% (p = 0.0001) and HCO₃⁻ by 2.8% (p = 0.02). Although PETCO₂ remained unchanged, VDA/V_T and aaPO₂ decreased significantly. The mean initial optimal F_INO established for the first day was 8.5 ± 2.6 ppm. Five of 15 patients were nonresponders to inhNO (increase in HS ≤ 20%). There was no difference in the initial mean HS between responders and nonresponders (127.7 ± 25.6 versus 118 ± 19.6 mm Hg, respectively). Comparison between groups showed that the initial changes of PaO₂, HS and Q_{VA}/Q_T were significantly larger in the experimental group than in the control group (Table 3).

Follow-up Effects

Excluding the initial effect, we did not observe any difference between groups. There was not sufficient evidence to support the use of a quadratic model for any of the measures of lung function considered (the proportion of patients with significant quadratic terms never exceeded 20%). Accordingly, for each patient we characterized the change in lung function over the follow-up period by the slope of the corresponding linear regression of lung function on time. As shown in Table 3, the mean weighted linear slopes from Day 1 onward for PEEP, CL, and Q_{VA}/Q_T were not different between groups; there was some evidence (p = 0.06) of a difference in the change of HS, with a tendency of greater decline in the inhNO-treated group than in the control group. It should be noted that the estimated mean weighted linear slopes were sometimes highly variable between individual patients, e.g., for HS in the inhNO group, comprising essentially an equal number of positive and negative individual slopes. The mean F_INO used during the study, based on optimal dosage determination, was 5.6 ± 1.8 ppm. The mean duration of inhNO treatment was 8.1 ± 1.3 d (range: 28 to 453 h), F_INO₂ was always ≤ 1 ppm, and excessive methemoglobinemia was never detected.

Survival Rate, Duration of Mechanical Ventilation, and Therapeutic Success Rate

The 30-d mortality and the duration of mechanical ventilation were almost identical in the two groups: nine of 15 deaths and 22.3 ± 2.5 d of ventilation in the inhNO group versus eight of 15 deaths and 24.1 ± 2.5 d in the control group. A majority of the deaths (11 of 17) occurred from multiple organ dysfunction syndrome (MODS). Although the subgroup of survivors treated with inhNO showed a 20% reduction in the duration of mechanical ventilation when compared with the control group (10.8 ± 1.2 versus 12.8 ± 4.2 d, respectively), the difference was not statistically significant (p = 0.44). The global evolution of therapeutic success was not different between the two groups (p = 0.83) (Figure 1). In the experimental group, the final therapeutic success rate was slightly higher (40%) and reached earlier (at Day 15) than in the control group (33.3% at Day 30). Of the five patients of both groups with direct lung-injury-induced ARDS only one died, in the control group. Consequently, the therapeutic success rate of the

TABLE 3
COMPARISON OF LUNG FUNCTION EVOLUTION BETWEEN CONTROL
AND EXPERIMENTAL (INHALED NO) GROUPS*

106

	Baseline [†]	Difference between Day 1 and Baseline	Average Daily Change (Linear Slope) from Day 1
Pa _O ₂ , mm Hg			
Control group	99.1 ± 8.3	-6.2 ± 10.7	-1.01 ± 0.3
Inhaled NO group	80.5 ± 4.8	+23.3 ± 6.9	-1.2 ± 0.4
p Value [‡]		0.03	0.72
HS, mm Hg			
Control group	152.1 ± 18.5	+14.2 ± 18.1	+1.2 ± 1.5
Inhaled NO group	119.4 ± 13.6	+70.4 ± 13.4	-2.8 ± 1.5
p Value		0.02	0.06
PEEP, cm H ₂ O			
Control group	10.6 ± 1.7	+1 ± 0.5	-0.1 ± 0.1
Inhaled NO group	10.2 ± 0.7	+0.6 ± 0.7	-0.2 ± 0.1
p Value		0.68	0.36
CL, ml/cm H ₂ O			
Control group	29.9 ± 3.6	-0.9 ± 1.6	-0.5 ± 0.1
Inhaled NO group	31.8 ± 2.9	+0.2 ± 2.7	-0.2 ± 0.1
p Value		0.73	0.25
Q _{va} /Q _T , %			
Control group	19.4 ± 2.1	-4.5 ± 2.2	+0.05 ± 0.2
Inhaled NO group	25.7 ± 3.2	-10.5 ± 2.1	+0.07 ± 0.2
p Value		0.05	0.83

Definition of abbreviations: HS = hypoxia score (Pa_O₂/F_IO₂); PEEP = positive end-expiratory pressure; CL = lung compliance [(V_T/P_{peak} - totalPEEP)]; V_T = tidal volume; P_{peak} = peak airway pressure; Q_{va}/Q_T = venous admixture [100 × (C_cO₂ - C_aO₂)/(C_cO₂ - C_vO₂)], C_cO₂, C_aO₂, and C_vO₂ = capillary, arterial, and venous oxygen contents.

* Variables reported as mean ± SE.

[†] Baseline values collected immediately after the inclusion of the patient in the study.

[‡] p Value of the comparison between experimental and control groups.

remaining patients with sepsis-induced ARDS was 28% (30.8% in the inhNO, and 25% in the control group). Four of five inhNO nonresponders died, and the therapeutic success rate in inhNO responders was 50%.

DISCUSSION

This is the first report of a randomized controlled trial of patients with ARDS treated with inhNO that addresses these issues. Small sample size, heterogeneous populations and treatments, as well as selection bias, plagued previous studies on the effect of inhNO in patients with ARDS. Moreover, none of them used a control group without inhNO followed in parallel except Chollet-Martin and colleagues (9) whose main objective was not the survival rate. Several of these studies carried out a crossover design with prostacyclin (8, 12, 15) or almitrine (16, 17) to study the effect of inhNO on hypoxemia. This design, however, fails to address important clinical outcomes such as survival or weaning and is very limited because of the ARDS instability in time. The lack of consistency in previous studies could result from the high variety of ARDS etiologies, the large F_INO (10 ppb [20] to 128 [21] ppm) and age (1 [15] to 81 [22] yr) ranges. Most of the investigators used a unique F_INO dose, which, in our opinion, does not optimize treatment. Finally, several studies used concomitant treatments such as ECMO (8, 12, 14, 20, 23), permissive hypercapnia (22, 24, 25), or vasoactive drugs (16, 21, 25, 26), which makes it difficult to compare the outcome. In our trial, the population was selected on strict criteria and received uniform standardized care for their conditions. Random allocation of the intervention as well as strict objective assessment of the parameters ensured absence of bias.

Our results confirm those of previous studies (15, 20–22, 26, 27) in so far as showing that inhNO initially exerts a moderate pulmonary vasodilatory effect that is accompanied by an improvement in alveolocapillary gas exchange and an absence

of clinical systemic hemodynamic effects (Tables 2 and 3). The beneficial effect resulting in improved oxygenation is likely related to the redistribution of blood flow from unventilated shunted areas to ventilated but under perfused areas, the so-called "steal phenomena" (16, 26–28). Unlike that in a study of patients with chronic obstructive pulmonary disease (29), no negative response to introduction of inhNO was observed in our study. By dilating some constricted pulmonary vessels

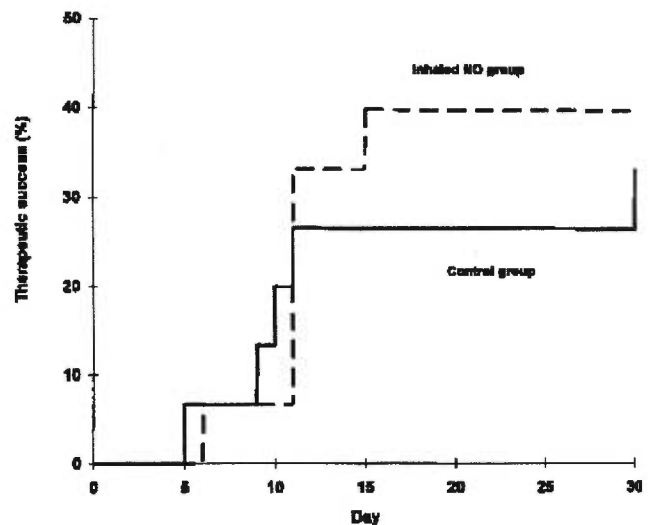


Figure 1. Therapeutic success rate evolution of control and experimental (inhaled NO) groups. Therapeutic success was defined as successful weaning from mechanical ventilation with extubation within 30 d after inclusion in the study. There was no evidence of difference between the two groups (p = 0.83).

in ventilated lung areas, inhNO improved the high ratio ventilation/perfusion inequality, thereby reducing $AaPO_2$, and V_D/V_T . As a consequence, Pa_{CO_2} was slightly but significantly reduced. In our study, PET_{CO_2} was unchanged; other investigators have similarly found either no increase (23, 27) or only a slight (1 to 3 mm Hg) increase (21, 23) in this parameter. The effect of inhNO over time in comparison with a control group has never been published. The initial effects on HS and Q_{VA}/Q_T (Table 3) were significantly greater in the experimental group than in the control group. However, after the initial period, there was no evidence of continued improvement in the experimental group or in the control group. There was no significant difference in duration of mechanical ventilation and mortality, and, consequently, the therapeutic success rate was similar in both groups. The slight trend of inhNO improvement through the duration of mechanical ventilation observed with the subgroup of survivors is difficult to interpret. It could represent a real effect or be a product of selection bias.

The contrast between a strong positive initial effect on lung function and the absence of effect on global mortality is striking and may yield different explanations. As noted above, a slight disadvantage on baseline severity scoring systems and lung status was observed in the experimental group. This difference, however, is not likely to explain the absence of survival difference because there was no correlation between the severity of initial scoring systems and the 30-d mortality. A multivariate model, adjusted for the initial severity score, did not change the results. Our results show that after the first day the two groups presented similar evolutions, suggesting that both groups reached the same maximal level of possible improvement, but that patients treated with inhNO did it more quickly. Therefore, inhNO did not change the general health status, which was already profoundly altered (mean APACHE II score = 27.4) when patients were included (established ARDS). Our results are compatible with the fact that the death during the acute phase of ARDS is usually attributable to the underlying illness or injury (30), whereas later deaths are mainly due to MODS (31), and they corroborate the comments of Wenstone and Wilkes (32) that new therapies directed solely at treating the lung will be unlikely to significantly reduce the mortality from what is essentially an inflammatory systemic disease.

In this context one may see the evolution of HS over time as the effect of optimal standard ventilation whose effectiveness is limited by the impaired lung condition; inhNO might help reach this maximum attainable level, without transforming the respiratory function or the final prognosis. It is possible that earlier treatment with inhNO could be more effective on mortality, and ARDS may be easier to reverse (33), or that inhNO administered to patients with direct lung-injury-induced ARDS (without MODS) may also have a positive effect on mortality as well. In the studies done by Rossaint and colleagues (8) and Gerlach and coworkers (14), the majority of patients had ARDS resulting from direct lung injury, and the survival rate with inhNO was high (11 of 13). In our study, the number of patients so affected was small ($n = 5$) and the prognosis was good in both groups: two of two, and two of three, respectively, in the inhNO and control groups. We also found that nonresponders to inhNO (initial increase in HS $\leq 20\%$) had a very poor prognosis (four of five deaths). All these patients, however, were treated because their HS improved by more than 5% with the therapy. The lack of a demonstrable effect on mortality does not imply that administration of inhNO is worthless (34). The rapid improvement in lung function in comparison with the control group is a positive element that may facilitate ventilatory support; hence, de-

crease iatrogenic pulmonary pathology. This aspect supports the observation made by Petros and colleagues (34) that mortality is not a good criterion to assess the role of a new therapeutic modality in the ICU, and that reducing morbidity is a more adequate achievable end point. Eventually, the additive effects of a number of therapies decreasing morbidity in patients with ARDS may lead to a decrease in mortality (25). It has been shown that the overall mortality has lessened in ARDS, although no single therapeutic approach improved it (35).

Our study confirms the initial efficacy of inhNO on lung function but does not show any significant difference between groups after the first day of follow-up. We observed a more rapid resolution of pulmonary changes in blood gas criteria in ARDS, which was not followed by beneficial effects on lung function, duration of mechanical ventilation, and mortality. Although our sample was representative of a population with sepsis-induced established ARDS resulting in MODS, this pilot study suggests that demonstrating an effect of inhNO on ARDS mortality in this population would be difficult to achieve even with a large multicenter trial. In these conditions, we suggest that further studies should focus on early treatment (when the condition is more likely to be reversible) and on the use of inhNO on selected populations such as patients with ARDS induced by direct lung injury or those responsive to the therapy whatever the etiology. These populations should benefit the most from the use of inhNO with a putative effect not only on gas exchange but also on mortality.

Acknowledgment: The writers wish to thank Dr. F. Donati, Chairman of the Anesthesia Department of Université de Montréal, for his support, Drs. L. Roux, G. Hellou, and A. Denault for their participation in clinical trial and constructive comments, and Drs. G. Czaika and N. G. Hartman for their help in editing the manuscript. They are also indebted to the nursing and respiratory therapy staff of the medical and surgical ICUs, and all other health professionals of Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Campus Notre Dame for their invaluable collaboration, in particular, Mrs. S. Charneau, N. Rondeau, M. Boivin, Dr. L. Dubé, Mr. R. Carrier, and R. Lapointe.

References

1. Ashbaugh, D. G., D. B. Bigelow, T. L. Petty, and B. E. Levine. 1967. Acute respiratory distress in adults. *Lancet* 2:319-323.
2. Bernard, G. R., A. Artigas, K. L. Brigham, J. Carlet, K. Falke, L. Hudson, M. Lamy, J. R. Legall, A. Morris, and R. Spragg. 1994. The American-European Consensus Conference on ARDS: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:818-824.
3. Murray, J. F., M. A. Matthay, J. M. Luce, and M. R. Flick. 1988. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 138:720-723.
4. Quinlan, J. G., T. W. Evans, and J. M. C. Gutteridge. 1994. Oxidative damage to plasma proteins in adult respiratory distress syndrome. *Free Radic. Res.* 20:289-298.
5. Radomski, M. W., R. M. J. Palmer, and S. Moncada. 1990. An L-arginine: nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:5193-5197.
6. Kubes, P., and D. N. Granger. 1992. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am. J. Physiol.* 262:H611-H615.
7. Clancy, R. M., J. Leszczynska-Piziak, and S. B. Abramson. 1992. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on NADPH oxidase. *J. Clin. Invest.* 90:1116-1121.
8. Rossaint, R., K. J. Falke, F. A. López, K. Slama, U. Pison, and W. M. Zapol. 1993. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.* 328:399-405.
9. Chollet-Martin, S., C. Gatecel, N. Kermarrec, M. A. Gougerot-Pocidallo, and D. M. Payen. 1996. Alveolar neutrophil functions and cytokine levels in patients with the adult respiratory distress syndrome during nitric oxide inhalation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153:985-990.
10. Benzing, A., and K. Geiger. 1994. Inhaled nitric oxide lowers pulmonary capillary pressure and changes longitudinal distribution of pulmonary vascular resistance in patients with acute lung injury. *Acta Anaesthe-*

- siol. Scand.* 38:640-645.
11. Samama, C. M., M. Diaby, J. L. Fellahi, A. Mdbafar, D. Eyraud, M. Arock, J. J. Guillosson, P. Coriat, and J. J. Rouby. 1995. Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 83:56-65.
 12. Rossaint, R., K. Slama, W. Steudel, H. Gerlach, D. Pappert, S. Veit, and K. Falke. 1995. Effects of inhaled nitric oxide on right ventricular function in severe acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 21:197-203.
 13. Troncy, E., M. Francœur, I. Salazkin, F. Yang, M. Charbonneau, G. Leclerc, P. Vinay, and G. A. Blaise. 1997. Extra-pulmonary effects of inhaled nitric oxide in swine with and without phenylephrine. *Br. J. Anaesth.* 79:631-640.
 14. Gerlach, H., D. Pappert, K. Lewandowski, R. Rossaint, and K. J. Falke. 1993. Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 19:443-449.
 15. Walmrath, D., T. Schneider, R. Schermuly, H. Olschewski, F. Griminger, and W. Seeger. 1996. Direct comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized prostacyclin in acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153:991-996.
 16. Wysocki, M., C. Delclaux, E. Roupie, O. Langeron, N. Liu, B. Herman, F. Lemaire, and L. Brochard. 1994. Additive effect on gas exchange of inhaled nitric oxide and intravenous almitrine bismesylate in the adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 20:254-259.
 17. Lu, Q., E. Mourgeon, J. D. Law-Koune, S. Roche, C. Vezinet, L. Abdennour, E. Vicaut, L. Puybasset, M. Diaby, P. Coriat, and J. J. Rouby. 1995. Dose-response curves of inhaled nitric oxide with and without intravenous almitrine in nitric oxide-responding patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 83:929-943.
 18. Knaus, W. A., E. A. Draper, D. P. Wagner, and J. E. Zimmerman. 1985. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit. Care Med.* 13:818-829.
 19. Dubé, L., M. Francœur, E. Troncy, R. Carrler, and G. Blaise. 1995. Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Can. J. Anaesth.* 42:922-927.
 20. Gerlach, H., R. Rossaint, D. Pappert, and K. J. Falke. 1993. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *Eur. J. Clin. Invest.* 23:499-502.
 21. Young, J. D., W. J. Brampton, J. D. Knighton, and S. R. Finfer. 1994. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *Br. J. Anaesth.* 73:499-502.
 22. Puybasset, L., T. Stewart, J. J. Rouby, P. Cluzel, E. Mourgeon, M. F. Belin, M. Arthaud, C. Landault, and P. Viars. 1994. Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 80:1254-1267.
 23. Rossaint, R., H. Gerlach, H. Schmidt-Ruhnke, D. Pappert, K. Lewandowski, W. Steudel, and K. Falke. 1995. Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 107:1107-1115.
 24. Wysocki, M., P. Vignon, E. Roupie, M. Humbert, S. Adnot, F. Brochard, and L. Brochard. 1993. Improvement in right ventricular function with inhaled nitric oxide in patients with the adult respiratory distress syndrome (ARDS) and permissive hypercapnia (abstract). *Am. Rev. Respir. Dis.* 147:A350.
 25. Levy, B., P. E. Bollaert, P. Bauer, L. Nace, G. Audibert, and A. Larcan. 1995. Therapeutic optimization including inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome in a polyvalent intensive care unit. *J. Tr. Inj. Inf. Crit. Care* 38:370-374.
 26. Bigatello, L. M., W. E. Hurford, R. M. Kacmarek, J. D. Roberts, Jr., and W. M. Zapol. 1994. Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with severe adult respiratory distress. *Anesthesiology* 80:761-770.
 27. Puybasset, L., J. J. Rouby, E. Mourgeon, P. Cluzel, Z. Souhil, J. D. Law-Koune, T. Stewart, C. Devilliers, Q. Lu, S. Roche, P. Kalfon, E. Vicaut, and P. Viars. 1995. Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 152:318-328.
 28. Cioffi, W. G., and H. Ogura. 1995. Inhaled nitric oxide in acute lung disease. *New Horiz.* 3:73-85.
 29. Barberà, J. A., N. Roger, J. Roca, I. Rovira, T. W. Higgenbottom, and R. Rodriguez-Roisin. 1996. Worsening of pulmonary gas exchange with nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 347:436-440.
 30. Artigas, A., J. Carlet, J. R. Le Gall, C. L. Chastang, L. Blanch, and R. Fernandez. 1991. Clinical presentation, prognostic factors, and outcome of ARDS in the European Collaborative Study 20(1985-1987): a preliminary report. In W. M. Zapol and F. Lemaire, editors. *Adult Respiratory Distress Syndrome*. Marcel Dekker, New York. 37-63.
 31. Montgomery, A. B., M. A. Stager, C. J. Carrico, and L. D. Hudson. 1985. Causes of mortality in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* 132:485-489.
 32. Wenstone, R., and R. G. Wilkes. 1994. Clinical management of ARDS. *Br. J. Anaesth.* 72:617-619.
 33. Lowson, S. M., G. F. Rich, P. A. McArdle, J. Jaidev, and G. N. Morris. 1996. The response to varying concentrations of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesth. Analg.* 82: 574-581.
 34. Petros, A. J., J. C. Marshall, and H. K. Van Saene. 1995. Should morbidity replace mortality as an endpoint for clinical trials in intensive care? *Lancet* 345:986-987.
 35. Morris, A. H., C. J. Wallace, R. L. Menlove, T. P. Clemmer, J. F. Orme, Jr., L. K. Weaver, N. C. Dean, F. Thomas, T. D. East, N. L. Pace, M. R. Suchyta, E. Beck, M. Bombino, D. F. Settig, S. Bohm, B. Hoffmann, H. Becks, S. Butler, J. Pearl, and B. Rasmussen. 1994. Randomized clinical trial of pressure-controlled inverse ratio ventilation and extracorporeal CO₂ removal for adult respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 149:295-305.

Chapitre 6

DISCUSSION

8.0 Mise à jour des données expérimentales.

8.1 Résumé.

8.1.1 *NO inhalé, un vasodilatateur pulmonaire sélectif.*

8.1.1.a Effet anti-hypertenseur pulmonaire du NO inhalé.

Historiquement les patients non-intubés furent les premiers à recevoir la thérapie du NO en inhalation. En 1988, le groupe d'Higenbottam⁽¹⁰⁾ compara les effets vasodilatateurs du NO inhalé à ceux de la prostacycline (PGI₂) sur des patients respirant spontanément un mélange de 40 ppm de NO et d'air administré à l'aide d'un sac de Douglas. À cette occasion, le NO inhalé se révéla capable de diminuer la pression artérielle pulmonaire (PAP) chez sept patients atteints d'hypertension pulmonaire primaire sévère, et ce sans entraîner aucun effet systémique visible. Ce caractère « vasodilatateur pulmonaire sélectif » du NO inhalé fut par la suite confirmé sur de nombreux modèles expérimentaux d'hypertension pulmonaire développés sur animal anesthésié ou poumon isolé par :

- ❖ Vasocónstriction chimique induite par l'injection d'analogues du thromboxane A₂,^(44, 46, 62-72) d'héparine-protamine,⁽⁶²⁾ de monocrotaline,⁽⁷³⁻⁷⁶⁾ d'endothéline,⁽⁷⁷⁾ de *platelet-activating factor*,^(78, 79) de sérotonine,⁽⁸⁰⁾ de 8-épiprostaglandine (PG) F_{2α},⁽⁶⁹⁾ de phényléphrine,^(81, 82) ou d'un inhibiteur de la synthèse de NO.⁽⁸³⁾
- ❖ Atteinte de l'intégrité respiratoire induite par le phénomène de vasoconstriction pulmonaire hypoxique,^(44-58, 61) par hyperinflation,⁽⁸⁴⁾ par micro-embolisation pulmonaire aiguë,⁽⁸⁵⁻⁸⁹⁾ par reproduction de la maladie des membranes hyalines,⁽⁹⁰⁾ ou de l'hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né,⁽⁹¹⁾ ou de l'hypertension pulmonaire due à une hernie diaphragmatique congénitale⁽⁹²⁾ ou un défaut congénital cardiaque.⁽⁹³⁾

- ❖ Induction d'un processus inflammatoire lors d'infusion intraveineuse endotoxinique de lipopolysaccharide (LPS) d'*Escherichia coli*,^(47, 94-98) de Streptocoques,⁽⁹⁹⁾ par développement d'un syndrome d'ischémie-reperfusion pulmonaire⁽¹⁰⁰⁾ ou de lésion pulmonaire aiguë (LPA) / SDRA induite par stress oxydatif,⁽¹⁰¹⁾ inhalation de fumée,^(102, 103) instillation endotrachéale de méconium,^(104, 105) lavages pulmonaires répétés^(67, 71, 106-110) ou injection atriale droite⁽¹¹¹⁻¹¹⁴⁾ ou intraveineuse^(85, 115, 116) d'acide oléique.

Le NO inhalé atteint le muscle lisse vasculaire pulmonaire par diffusion à partir des alvéoles ventilées, causant ainsi la relaxation des vaisseaux adjacents à ces dernières.^(10, 59) Comme le NO présent dans le lit sanguin pulmonaire est rapidement et très spécifiquement absorbé par les érythrocytes et inactivé par une fixation très solide sur le fer hémique de l'hémoglobine,⁽¹¹⁷⁾ son effet vasodilatateur semble limité à la sphère pulmonaire. Le complexe formé avec l'hémoglobine est par la suite métabolisé en méthémoglobine. Il a d'ailleurs été trouvé une relation dose-réponse dans la formation de méthémoglobine sanguine lors d'inhalation de NO.⁽⁵⁹⁾ Cette relative sélectivité a conféré au NO inhalé le concept enthousiaste d'une thérapeutique vasodilatatrice pulmonaire efficace et sans effet secondaire (surtout en comparaison aux vasodilatateurs systémiques, nitrates organiques, antagonistes du calcium ou dérivés d'eicosanoïdes).

Deux études animales ont toutefois démontré l'absence d'effet anti-hypertenseur du NO inhalé dans des conditions bien précises de PAP élevée. L'hypertension pulmonaire passive, post-capillaire induite par dénervation sino-aortique chez le Chien dans la première étude⁽¹¹⁸⁾ se rapproche du modèle développé par nos soins avec la phényléphrine.⁽⁸²⁾ Leurs résultats concordent avec les nôtres, dans le sens où le NO inhalé n'a pas d'effet direct sur les vaisseaux pulmonaires non contractés. Ils corroborent également l'implication d'un effet extra pulmonaire du NO inhalé tel que suggéré dans notre étude,⁽⁸²⁾ où l'effet lusitropique positif du NO inhalé sur le myocarde expliquait la baisse de PAP ; cet effet, Galinier et coll.⁽¹¹⁸⁾ n'ont pu le reproduire en raison probablement de la dose plus faible de NO utilisée (25 ppm) ou des particularités hémodynamiques de leur modèle. La deuxième étude⁽¹¹⁹⁾ concerne un modèle de pneumonie bactérienne induite par inoculation intratrachéale de colonies d'*Escherichia coli* sur des Chiens en respiration spontanée. Le NO inhalé,

à la dose de 80 ppm, augmenta légèrement l'oxygénation et se révéla incapable de diminuer l'hypertension pulmonaire, un résultat que l'on a également observé avec le SDRA chez l'Homme⁽¹²⁰⁾ et dans le modèle de SDRA induit par injection d'acide oléique chez le Chien.^(111, 113) À la décharge du NO inhalé, il faut signaler que dans l'étude de Quezado et coll.,⁽¹¹⁹⁾ aucune technique ventilatoire n'a été mise en œuvre pour faciliter le recrutement alvéolaire et donc l'effet de la thérapie par inhalation. Or, Putensen et coll. ont montré que le NO inhalé était plus efficace dans un modèle de SDRA induit par injection d'acide oléique chez le Chien en présence d'une pression positive continue des voies respiratoires⁽¹¹²⁾ que sans.⁽¹¹¹⁾ Le SDRA étant une atteinte inflammatoire sévère du poumon avec des dommages non uniformes du parenchyme et de l'interface alvéolo-capillaire, il advient que le NO inhalé présente des résultats discordants sur l'hypertension pulmonaire selon les études, humaines mais aussi animales. Ainsi, Shah et coll. ont dans un premier temps⁽¹¹⁵⁾ obtenu des résultats très encourageants avec le NO inhalé sur un SDRA induit chez le Porc par injection d'acide oléique. Par la suite,⁽¹¹⁶⁾ sur le même modèle, le NO inhalé diminuait toujours l'hypertension pulmonaire mais était incapable d'améliorer l'oxygénation. Des résultats similaires ont été obtenus avec d'autres modèles.^(89, 103, 105) De plus, le NO inhalé a été administré de façon tardive, soit à 24, 48 et 524 heures après l'inoculation bactérienne.⁽¹¹⁹⁾ Il est important de signaler qu'au contraire de ce modèle, les effets du NO inhalé dans les autres modèles cités ont été majoritairement évalués immédiatement ou peu de temps après l'agression. Il se peut là encore que les remaniements tissulaires affectent l'efficacité du traitement. À ce sujet, les résultats obtenus sur un modèle d'hypertension pulmonaire chronique par injection de monocrotaline sont discordants. Le NO inhalé s'est ainsi avéré un bon anti-hypertenseur dans la période immédiate post-agression,^(73, 74) ou trois⁽⁷⁶⁾ et six⁽⁷⁵⁾ semaines après l'injection de monocrotaline. Mais il fut inefficace dans d'autres conditions sur la PAP et le remaniement de la paroi vasculaire après trois semaines d'évolution.^(76, 121)

En résumé, l'effet du NO inhalé sur la circulation pulmonaire est quelque peu variable mais cette variabilité s'explique fort bien en connaissance des principes fondamentaux de fonctionnement de cette thérapie : (1) alors que les cellules endothéliales régulent le tonus vasculaire basal par une production continue de NO endogène sous la gouverne prépondérante des forces de friction rhéologiques sanguines, des variations de la pression par-

tielle artérielle en O_2 (PaO_2) et de la stimulation de récepteurs endothéliaux (à l'acétylcholine, la bradykinine, la substance P, l'histamine, divers agents dérivés des plaquettes, etc.) particulièrement au niveau de la circulation systémique, il semble que le NO ne joue pas un rôle majeur dans le maintien d'un tonus vasculaire pulmonaire bas avec des variations toutefois selon les espèces et les conditions physiologiques. Le NO inhalé ne dilate que les vaisseaux pulmonaires constricés, il est sans effet sur la circulation pulmonaire normale ; (2) le NO inhalé exerce une vasodilatation doublement sélective, vasodilatation restreinte aux vaisseaux pulmonaires et limitée majoritairement aux territoires alvéolaires ventilés. Il se peut toutefois, qu'administré à forte dose, le NO inhalé atteigne par diffusion et jusqu'à un certain point des territoires alvéolaires non ventilés.

Cela se traduit par le fait que la baisse des résistances vasculaires pulmonaires consécutive à l'inhalation de NO est d'autant plus importante que celles-ci sont élevées au départ. Au cours du SDRA, pathologie respiratoire à laquelle nous nous sommes particulièrement intéressés, l'hypertension artérielle pulmonaire a une composante « fonctionnelle », réversible, en rapport avec les médiateurs circulants de l'inflammation tels que les dérivés eicosanoïdes (thromboxane A_2 , prostanoïdes, etc.), le *platelet-activating factor*, l'endothéline ou les radicaux libres dérivés de l' O_2 . Il existe aussi une part de l'hypertension artérielle pulmonaire qui est « fixée », non réversible, en rapport avec un épaississement pariétal des vaisseaux pulmonaires et avec la présence de microthromboses dans le lit vasculaire pulmonaire. Ceci apporte un autre élément d'analyse du phénomène des non-répondeurs au NO inhalé. Les patients répondeurs au NO sont des patients ayant des résistances vasculaires pulmonaires élevées ($> 200 \text{ dynes} \cdot \text{sec} \cdot \text{cm}^{-5} \cdot \text{m}^2$), tandis que les non-répondeurs sont ceux ayant des résistances vasculaires pulmonaires basses ou normales, ou ceux chez qui l'augmentation des résistances vasculaires pulmonaires est entièrement fixée, en rapport avec des remaniements anatomiques des vaisseaux pulmonaires ou des thromboses vasculaires. Ceci est vrai aussi bien pour les hypertensions artérielles pulmonaires compliquant la chirurgie cardiaque que pour celles observées au cours du SDRA.⁽¹⁴⁾

S'il existe une corrélation entre le niveau initial des résistances vasculaires pulmonaires et l'effet anti-hypertenseur du NO inhalé, elle est beaucoup moins évidente avec la

PAP. En effet, une hypertension artérielle pulmonaire peut être essentiellement débit-dépendante sans que les résistances vasculaires pulmonaires soient élevées. Le NO sera alors inefficace malgré l'existence d'une PAP élevée, car les vaisseaux pulmonaires ne sont pas vasoconstrictés. Une autre situation est celle où le NO inhalé augmente le débit cardiaque en améliorant la fonction ventriculaire droite. La baisse de PAP est alors « masquée » par l'élévation du débit cardiaque.

8.1.1.b Effet sur l'oxygénation du NO inhalé.

Basé sur son activité oxygénatrice, le NO inhalé est qualifié de « microsélectif » parce qu'il dilate uniquement les vaisseaux perfusant les unités alvéolaires ventilées et qu'il respecte la VPH des territoires non-ventilés. Dès lors chez un patient souffrant d'hypoxémie due à la présence d'un shunt intrapulmonaire important, le NO inhalé peut augmenter l'oxygénation artérielle en améliorant les inégalités ventilation / perfusion par une redistribution du débit sanguin des zones sous-ventilées, mais sources de shunt, vers les territoires ventilés, mais jusqu'à alors sous-perfusés.⁽⁹⁷⁾ C'est ce qu'on appelle le phénomène de « vol sanguin ». Ceci représente un avantage majeur par rapport aux vasodilatateurs systémiques qui tendent à aggraver l'incoordination ventilation / perfusion en dilatant non sélectivement les vaisseaux pulmonaires et systémiques, d'où une hausse du débit cardiaque et une aggravation du shunt intrapulmonaire. D'autres facteurs expliquent l'amélioration de l'oxygénation observée avec le NO inhalé, à savoir une diminution de la ventilation de l'espace mort associée à de la bronchodilatation locale,⁽¹²²⁾ une baisse de la perméabilité vasculaire, de la pression hydrostatique capillaire (par une action autant sur les veinules que sur les artérioles) et conséquemment des risques de formation d'œdème pulmonaire,^(95, 97) des effets anti-leucocytaire et anti-vasotrophique limitant les remaniements vasculaires importants dans des pathologies comme le SDRA et un effet anti-agrégant plaquettaire améliorant la rhéologie pulmonaire.^(88, 95)

Le seul facteur prédictif de l'efficacité du NO inhalé en termes de réduction du shunt intrapulmonaire est là encore le niveau des résistances vasculaires pulmonaires initiales. L'augmentation de la PaO₂ et la baisse de shunt induites par l'inhalation de NO sont d'autant plus marquées que les résistances vasculaires pulmonaires de base sont élevées. Ceci

explique que les critères d'analyse de la non-réponse au NO inhalé présentés précédemment sur la PAP sont valables aussi pour l'oxygénation avec une nuance importante toutefois qui est que la PaO₂ est un facteur complexe et multifactoriel résultant d'un panel de rapports ventilation / perfusion au niveau alvéolaire et du degré de perfusion pulmonaire. Malgré l'hétérogénéité des lésions pulmonaires, le nombre de territoires ventilés traversés par les vaisseaux pulmonaires est toujours suffisant pour que le NO puisse atteindre la musculature lisse de ces vaisseaux. En effet, ceux-ci ont un long trajet intraparenchymateux dans le lobule pulmonaire secondaire : dans l'axe bronchovasculaire pour les artères et dans les *septae* interlobulaires pour les veines. Après vasodilatation d'une artériole d'un lobule pulmonaire secondaire par le NO, les effets gazométriques au niveau de ce lobule vont dépendre des rapports ventilation / perfusion au niveau capillaire pulmonaire. Si, à ce niveau, il y a une prédominance d'alvéoles ventilées ou s'il y a autant d'alvéoles ventilées que non-ventilées, l'effet gazométrique sera favorable ou légèrement favorable par l'effet du vol sanguin. S'il existe plutôt une prédominance d'alvéoles non-ventilées, l'effet gazométrique sera défavorable car l'augmentation du flux sanguin pulmonaire va tendre à augmenter la proportion de zones pulmonaires à bas rapport ventilation / perfusion. L'effet global sur l'oxygénation artérielle va donc dépendre de la somme des effets locaux. On conçoit ainsi qu'une dégradation de l'oxygénation artérielle sous NO inhalé soit théoriquement possible. En pratique, on observe plutôt une absence d'effet telle que rapportée pour les non-répondeurs au NO dans le SDRA ou lors de maladie pulmonaire obstructive chronique (*cf.* article de revue, pages 63, 64, 67).

8.1.2 Métabolisme du NO inhalé

La question fondamentale de savoir comment l'*Endothelium-derived Relaxing Factor* (EDRF / NO) exerce ses fonctions biologiques, particulièrement son transport jusqu'à ses cibles moléculaires, reste d'actualité en 1998. La découverte que *Rhodnius prolixus*, un insecte suceur de sang, synthétise son propre NO et le « conserve » au sein d'une protéine hémique, transporteur adapté pour son injection dans la victime (ce qui entraîne une vasodilatation locale au site de piqûre et une inhibition de l'agrégation plaquettaire, facilitant ainsi la prise de sang), a confirmé la possibilité d'un transport biologique de NO.⁽¹²³⁾ Dans l'eau, l'ultra filtrat et le plasma, NO est oxydé en NO₂⁻ qui est stable pour plusieurs heures. Dans

le sang complet toutefois, NO_2^- est converti rapidement en NO_3^- . Il apparaît que le NO atteignant le lit sanguin peut être métabolisé par trois voies distinctes :⁽¹²⁴⁾ (1) interaction avec l' O_2 dissous sanguin pour former NO_2^- ; (2) réaction avec le fer hémique de l'hémoglobine pour former de la nitrosylhémoglobine $\{\text{Hb}(\text{Fe}_{\text{II}})\text{NO}\}$, qui en présence d' O_2 est oxydée en méthémoglobine $\{\text{Hb}(\text{Fe}_{\text{III}})\}$ (puis réduite de nouveau en hémoglobine grâce à la NADPH-méthémoglobine réductase) avec libération de NO_3^- ; (3) combinaison avec le résidu cystéine 593 sur la chaîne globine β de l'hémoglobine pour former la relativement stable S-nitrosohémoglobine (SNO-Hb) qui n'empêche pas une fixation concomitante de l' O_2 sur l'hème, ou avec toute autre molécule pour former d'autres S-nitrosothiols (ou thionitrites, SNO-R) ou autre forme de transport.

Ce métabolisme potentiel et simplifié du NO inhalé ne reflète pas la chimie complexe du NO qui fait intervenir un panel d'espèces liées au niveau du degré d'oxydoréduction mais avec des propriétés et une réactivité distinctes : NO^+ (cation nitrosonium ou nitrosyl), NO^\cdot (monoxyde d'azote) et NO^- (anion nitroxyl). Le radical libre NO^\cdot réagit avec l' O_2 pour former du dioxyde d'azote (NO_2), avec l'anion superoxyde (O_2^\cdot) pour former le toxique peroxynitrite (ONOO^\cdot), avec les métaux oxydoréducteurs (fer, cuivre) hémiques (tels que dans l'hémoglobine) ou pas, par un processus appelé nitrosylation.⁽¹²⁵⁾ Le cation NO^+ , formé par réduction de NO^\cdot , réagit avec plusieurs nucléophiles (on parle de nitrosation) tels que les groupements sulphydryl (ou thiol, $-\text{SH}$), amide ($-\text{NH}$) ou les bases aromatiques, ou avec des radicaux libres dérivés de l' O_2 , comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), pour former ONOO^\cdot .⁽¹²⁵⁾ La réaction de NO^+ avec les composés thiols produit une classe unique de composés impliqués dans le métabolisme de NO et appelés les S-nitrosothiols. L'anion NO^- peut lui aussi interagir avec les métalloprotéines (formation de méthémoglobine et libération de NO^\cdot) ou les thiols (formation d'hydroxylamines, R-NHOH).⁽¹²⁵⁾ Il produit du protoxyde d'azote (N_2O) par protonation, dimérisation et déshydratation (ce qui pourrait correspondre à une voie de détoxification puisque le potentiel toxique de N_2O est moins élevé que celui de NO),⁽¹²⁵⁾ ONOO^\cdot en présence d' O_2 et des nitroxyls (HNO) par radiation chimique.⁽¹²⁶⁾

La nitrosylation métallique sur des protéines hémiques, ou pas, aussi bien que l'attrait de NO pour les groupements nucléophiles d'acides aminés, peptides et protéines ou les bases aromatiques, conduit aux interactions potentielles et à la formation de nombreux composés nitrosyl-fer, hémiques (HbNO), ou pas⁽¹²⁷⁾ {clusters nitrosyl fer-sulfure, complexes nitrosyl fer couplés à des groupements thiols et appelés les « complexes 2,03 »⁽¹²⁸⁾ tels les complexes dinitrosyl fer (DNIC) couplés à des thiols pariés dans une même protéine ou de faible poids moléculaire telles la L-cystéine⁽¹²⁹⁾ ou le glutathion pour former des composés $\text{Fe}(\text{NO})_2\text{-(RS)}_2$, de *S*-nitrosothiols non-protéiques (*S*-nitroso-L-cystéine,^(130, 131) –glutathion,⁽¹³²⁾ –*N*-acétyl-L-cystéine, etc.), de protéines *S*-nitrosées⁽¹³³⁾ (*S*NO-albumine,^(134, 135) *S*NO-Hb,⁽¹²⁴⁾ etc.), de *N*-nitrosamines (RNH-NO), R-NHOH ou oximes (R=NOH),⁽¹³⁶⁾ ou encore des composés générant des HNO,⁽¹³⁷⁾ etc.

L'interconversion des formes liées par leur potentiel d'oxydoréduction conduit aux nombreuses possibilités de transporteurs de NO cités précédemment. Par exemple, les complexes métal-nitrosyl, principalement impliqués dans des réactions de style NO \cdot , peuvent agir comme agents électrophiles « nitrosants », *i.e.* ils transfèrent NO $^+$ vers des substrats nucléophiles.⁽¹²⁵⁾ Dans le même ordre, la versatilité d'oxydoréduction de NO est à l'origine de son interconversion d'espèce neuroprotectrice (*S*-nitrosation de NO $^+$ sur un groupement thiol du récepteur NMDA pour bloquer la transmission nerveuse) en espèce neurotoxique (réaction de NO \cdot avec O $_2\cdot^-$) selon l'environnement oxydoréducteur du milieu ;⁽¹³⁸⁾ les thiols présentent la plus grande prévalence et réactivité sur les autres nucléophiles biologiques,⁽¹³⁹⁾ et la source la plus abondante de groupements sulphydryls dans les tissus mammaliens est la cystéine (soit libre, soit sous forme peptidique) ;⁽¹⁴⁰⁾ particulièrement, les *S*NO-albumine⁽¹³³⁾ et *S*NO-Hb⁽¹²⁴⁾ peuvent constituer un réservoir qui protégerait EDRF / NO de son inactivation dans le lit vasculaire et présenterait des propriétés style EDRF / NO éloignées dans l'espace et le temps de son site de production.^(134, 141)

La *S*-nitrosation de l'hémoglobine (*S*NO-Hb) se réalise dans le poumon, où le NO peut provenir d'une production endogène (endothéliale, épithéliale, auto-inhalée, etc.), d'une contribution environnementale, ou encore d'un transfert intramoléculaire de la forme nitrosylée de l'hémoglobine (HbNO) ou par *S*-transnitrosation d'une autre forme de trans-

port (SNO-R) de faible poids moléculaire.⁽¹⁴²⁾ Le processus de S-nitrosation est gouverné par le changement de conformation de l'hémoglobine régulé allostériquement par la fixation de l'O₂ et le degré d'oxydation de l'hème.^(124, 142, 143) L'étude de Scharfstein et coll.⁽¹⁴⁴⁾ avance de façon convaincante l'hypothèse qu'un processus de S-transnitrosation entre la SNO-albumine et des thiols de faible poids moléculaire (L-cystéine, N-acétyl-L-cystéine testées), et donc de diffusion moins limitée, permet une libération plus rapide et efficace de NO à la cellule musculaire lisse. La même approche a également été utilisée avec succès pour l'albumine et le DNIC,^(145, 146) ainsi que l'hémoglobine et le glutathion.^(124, 143) Stamler⁽¹⁴⁷⁾ a proposé que les SNO-R sont impliqués dans la stabilisation de la bioactivité du NO, de son transport et de sa libération vers des sites effecteurs cibles et spécifiques (« thiorégulateurs »). Boese et coll.⁽¹⁴⁶⁾ ont aussi suggéré que les ligands attachés aux DNIC (L-cystéine et glutathion) peuvent servir de cibles spécifiques de reconnaissance. De tels mécanismes de formation de SNO-R⁽¹⁴⁸⁾ et de libération de NO à partir de ces composés SNO-R⁽¹⁴⁹⁾ supportent la possibilité de réactions de S-transnitrosation *in vivo*⁽¹⁵⁰⁾ et un rôle pour ces réactions dans le transport et le métabolisme d'EDRF / NO et du NO gazeux. Supportant cette hypothèse,⁽¹⁵¹⁾ les thiols de faible poids moléculaire facilitent la libération de NO à partir de protéines SNO-R plus stables dans le sang^(138, 142, 144) et de réservoirs nitrosyl-fer situés dans le cytosol endothélial.^(128, 152) En exemple, il a été récemment observé que les formes SNO-Hb libres ou érythrocytaires inhibent l'agrégation plaquettaire humaine (action induite par NO) suggérant un potentiel rôle anti-plaquettaire des globules rouges.⁽¹⁵³⁾ D'autres voies de synthèse des SNO-R et de libération de NO à partir de ces composés ont également été proposées,⁽¹⁴⁶⁾ faisant intervenir des intermédiaires métaboliques comme HNO₂, l'anhydride nitreux (N₂O₃)⁽¹⁵⁴⁾ ou ONOO, ou bien une action de NO tout en étant fixé sur le thiol,⁽¹⁵⁵⁾ ou une décomposition / formation des SNO-R faisant intervenir le couple cuivre Cu⁺ / Cu²⁺ à la place du fer (Fe²⁺ / Fe³⁺).^(156, 157)

Le mécanisme d'action des seconds messagers responsables des effets du NO est partiellement connu.^(158, 159) Outre la formation de 3',5'-guanosine monophosphate cyclique (GMPc) induisant une activation de protéines kinases GMPc-dépendantes (PKG) et une modulation de l'activité des phosphodiésterases (PDE) aboutissant à une baisse de la concentration de Ca²⁺ intracellulaire et de la sensibilité du myofilament au Ca²⁺ (*cf.* article de re-

vue, page 62), on peut mentionner^(158, 160) une intervention directe du GMPc au niveau de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ et de divers canaux ioniques tels que les canaux chlorures (Cl^-)⁽¹⁶¹⁾ et potassiques Ca^{2+} -dépendants (K^+_{Ca})⁽¹⁶⁰⁾. Ces derniers pourraient aussi être directement stimulés par NO ,^(162, 163) provoquant une hyperpolarisation membranaire qui amplifie l'inhibition causée par les PKG (Figure 2). Les autres actions potentielles du NO non régies par le GMPc incluent la formation de ONOO^- , la modification d'enzymes et de facteurs régulateurs nucléaires *via* la fixation sur des métaux transitionnels ou des groupements thiols, et la formation de nitrotyrosines influençant les sites régulateurs et catalytiques.^(147, 164) Par ailleurs, soit la *S*-nitrosation de protéines régulatrices du Ca^{2+} au niveau du réticulum sarcoplasmique⁽¹⁶⁵⁾ ou contrôlant la probabilité d'ouverture de canaux tels que les K^+_{Ca} ,⁽¹⁶⁶⁾ soit la suppression directe de la respiration mitochondriale par le NO ⁽¹⁶⁷⁾ pourrait aussi expliquer l'activité inhibitrice du NO sur la vasomotricité. De plus récemment, Gross et coll.⁽¹⁶⁸⁾ ont montré que NO peut réguler la réserve contractile (baisse du taux d'ATP), possiblement par une atténuation réversible de l'activité de la créatine-kinase à l'aide de nitrosothiol empêchant le transfert phosphoryl entre la phospho-créatine et l'ATP.

8.1.3 Effets extra pulmonaires du NO inhalé.

8.1.3.a Effets sur les cellules circulantes sanguines.

L'interaction du NO avec les érythrocytes a été décrite dans le paragraphe précédent. L'inhibition de la fonction plaquettaire a constitué la première démonstration objective d'effets systémiques du NO inhalé.⁽¹⁶⁹⁾ L'effet inhibiteur du NO sur l'agrégation et l'adhésion des plaquettes et des polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) a été bien documenté *in vitro*.^(8, 170-172) Il est maintenant reconnu que les plaquettes traversant le lit vasculaire de poumons traités avec du NO inhalé vont montrer une activation de la GCs du cytosol plaquettaire qui augmente les niveaux de GMPc.⁽¹⁷³⁾ Quand ces niveaux sont augmentés dans les plaquettes, la concentration intracellulaire de calcium libre diminue par intervention de PKG et de réactions de phosphorylation complexes. Cette baisse régule négativement l'expression en surface du complexe de glycoprotéine GPIIb-IIIa^(172, 174, 175) ou récepteur à fibrinogène nécessaire à l'agrégation plaquettaire.⁽¹⁷⁶⁾ Ceci peut prolonger le temps de saigne-

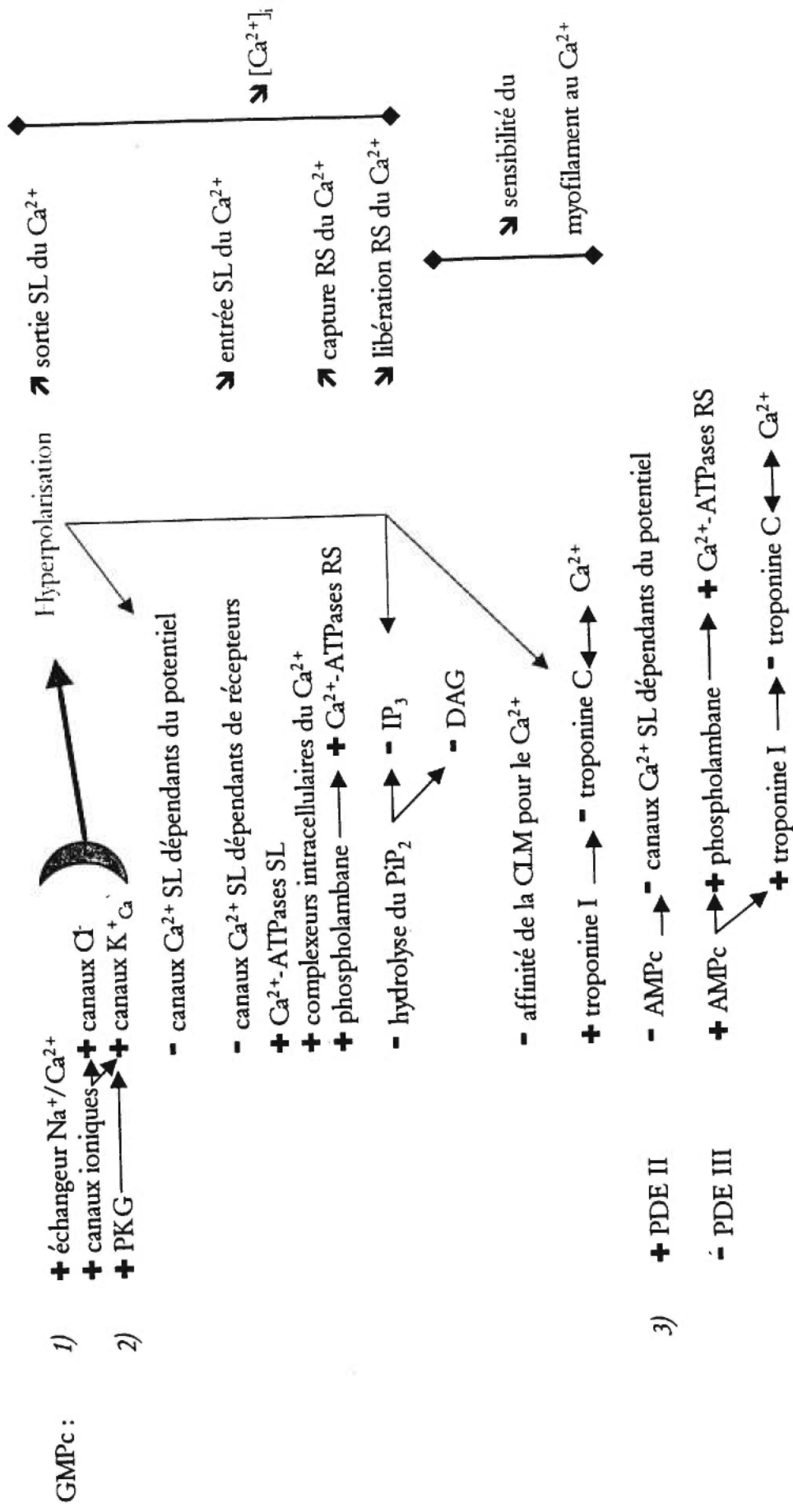


Figure 2. Effets supposés du GMPc au niveau des cellules musculaires lisses.

GMPc : 3',5'-guanosine monophosphate cyclique; **PKG :** protéine kinase GMPc-dépendante; **SL :** sarcolemnal(e); **RS :** réticulo-sarcoplasmique ;
PIP₂ : phosphatidyl-inositol 4,5-diphosphate ; **IP₃ :** 1,4,5-inositol triphosphate ; **DAG :** diacylglycérol ; **CLM :** chaîne légère de la myosine ; **PDE :**
 phosphodiesterase ; **AMPc :** 3',5'-adénosine monophosphate cyclique ; **+** : effet stimulant ; **-** : effet inhibiteur ; \leftrightarrow : augmente ; \rightarrow : diminue.

ment comme prouvé chez différentes espèces.^(169, 177-179) Chez des patients souffrant de SDRA, le NO inhalé a atténué l'agrégation plaquettaire *ex vivo* mais n'a pas modifié le temps de saignement.⁽¹⁸⁰⁾ Par ailleurs, le NO inhalé a causé une faible,⁽¹⁷³⁾ voire inexistante,⁽¹⁸¹⁾ atténuation de la fonction plaquettaire sur des sujets sains.⁽¹⁷³⁾ De façon identique à la cellule musculaire lisse, le mécanisme d'action du NO au niveau des plaquettes ne fait pas intervenir uniquement le GMPc. Notamment, des effets anti-plaquettaires de nitrosothiols ont ainsi été révélés par des mécanismes n'impliquant pas la GCs.^(153, 182) Dès lors la différence d'activité anti-plaquettaire du NO inhalé observée sur individus sains ou souffrant d'une atteinte inflammatoire pourrait s'expliquer par une modification de l'environnement oxydoréducteur à même d'influencer les différentes voies métaboliques du NO inhalé et ainsi ses répercussions sur l'agrégation plaquettaire.

Un risque d'effet délétère du NO inhalé sur la fonction plaquettaire existe donc (plus grande possibilité de saignement, particulièrement chez des patients présentant un désordre préexistant de la coagulation ou requérant l'utilisation d'autres composés inhibiteurs de la fonction plaquettaire) mais il demeure peu évident. D'un autre côté, cette inhibition plaquettaire du NO inhalé pourrait être bénéfique puisqu'elle participe à diminuer l'activation, l'agrégation des plaquettes et leur relâche d'agents vasoconstricteurs et/ou vasotrophiqes aussi bien que la formation de *thrombi*. Comme proposée précédemment,^(88, 95) cette inhibition pourrait expliquer partiellement les propriétés pulmonaires du NO inhalé sur l'oxygénation, l'hypertension et l'inflammation. Mais elle est aussi efficace sur des localisations extra pulmonaires puisque 80 ppm de NO inhalé inhibent la resténose post-angioplastie carotidienne chez le Rat⁽¹⁸³⁾ et que 20 ou 80 ppm augmentent l'ouverture des artères coronaires dans un modèle de ré-occlusion coronarienne induite par les plaquettes chez le Chien après thrombose et thrombolyse.⁽¹⁸⁴⁾

Sur un modèle de circulation extracorporelle (CEC) chez le Porc⁽¹⁸⁵⁾ révélant les effets hémodynamiques classiques du NO inhalé, une analyse scintigraphique a indiqué un effet *in vivo* inhibiteur du NO inhalé sur la séquestration pulmonaire des plaquettes et des PMNs probablement lié à l'inhibition de l'agrégation et/ou l'adhésion de ces cellules. Avec un modèle de maladie des membranes hyalines sur des Agneaux prématurés, Kinsella et

coll.⁽¹⁸⁶⁾ ont trouvé que de faibles doses (5 ppm) de NO inhalé diminuent le recrutement neutrophilique précoce dans les poumons (baisse de 79% de l'activité de la myéloperoxydase). Si Bloomfield et coll.⁽¹⁸⁷⁾ n'ont pas retrouvé cet effet sur leur modèle de sepsis porcin, leur étude a par contre révélé une atténuation du métabolisme oxydatif des PMNs et de leur migration transendothéliale (mais pas de leur adhésion). Ces résultats corroborent ceux observés par Kubes et coll.,⁽¹⁸⁸⁾ Clancy et coll.⁽¹⁸⁹⁾ ainsi que Gessler et coll.⁽¹⁹⁰⁾ chez des nouveau-nés atteints d'hypertension pulmonaire où l'activation neutrophilique, évaluée par la production d'O₂⁻, a été significativement réduite pendant et même après (jusqu'à quatre jours) l'inhalation de NO. Finalement, le groupe de Paul Kubes à Calgary,⁽¹⁹¹⁾ a observé que l'inhalation de 80 ppm de NO va palier le déficit endogène en NO au niveau d'une microcirculation extra pulmonaire en réduisant la baisse de perfusion, le recrutement leucocytaire et le dysfonctionnement microvasculaire induits par l'inhibition exogène de la synthèse de NO (perfusion locale de L-NAME) ou lors de syndrome d'ischémie-reperfusion mésentérique chez le Chat. Toutefois, ces effets du NO inhalé ne se retrouvent pas dans les conditions contrôles ou lorsque la pathologie induite au niveau mésentérique est septique, donc dans des situations où la production de NO est respectivement normale et très augmentée.

Chez des patients atteints de SDRA,⁽¹⁹²⁾ le NO inhalé a atténué le métabolisme oxydatif et l'adhésion des PMNs aussi bien que la relâche de cytokines (interleukines, IL-6 et IL-8) dans l'espace alvéolaire. Toutefois, l'effet inhibiteur du NO inhalé sur les PMNs et les plaquettes est une arme à double tranchant : d'un côté, le NO inhalé pourrait inhiber ou prévenir le processus inflammatoire qui se développe dans des pathologies telles que le SDRA, le syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) ou le syndrome de défaillance multi-organique (SDMO). Aussi, sur un modèle de sepsis sévère par infusion continue de LPS chez le Lapin,⁽¹⁹³⁾ le NO inhalé administré conjointement a-t'il amélioré le taux de survie sans modification des échanges gazeux ; de l'autre côté, il pourrait être délétère aux mécanismes de défense de l'hôte en contribuant ou en aggravant le syndrome de réponse anti-inflammatoire compensatrice (SRAC ou syndrome d'immuno-dépression post-agression) présent dans la pathologie établie (*cf.* paragraphe 9.4.2.b.β).

8.1.3.b Effets cardio-vasculaires.

Dans nos études animales précédentes,^(61, 82) nous avons suggéré la présence d'effets cardiaques directs du NO inhalé identiques à ceux observés avec les vasodilatateurs nitrés indépendants de l'endothélium, tels que dépression de la contractilité myocardique et amélioration de la relaxation ventriculaire et de la distensibilité myocardique,⁽¹⁹⁴⁾ pour expliquer la nature des résultats obtenus. Toutefois, des études récentes,^(195, 196) arguent contre un effet négatif direct du NO inhalé sur la contractilité myocardique et, lors de fonction ventriculaire gauche normale chez l'Homme,⁽¹⁹⁷⁾ le NO inhalé ne modifie pas les états inotropique et lusitropique myocardiques ni la compliance diastolique. Les auteurs⁽¹⁹⁷⁾ soulignent cependant les limites de leur étude dans la discussion, particulièrement en ce qui a trait aux conditions expérimentales et au statut sain de leurs patients.

Frostell et coll.⁽⁵⁹⁾ ont observé un effet lent retardé sur la PAP après l'inhalation de NO pour lequel ils avaient proposé un mécanisme de stockage et de fixation du NO sur les protéines ou la formation de S-nitrosothiols dans le tissu pulmonaire. Högman et coll.⁽¹⁶⁹⁾ et Shah et coll.⁽¹¹⁵⁾ ont rapporté une petite mais significative baisse de la pression artérielle systémique (PAS) seulement aux concentrations les plus élevées de NO utilisées (respectivement 300 et 80 ppm). Dans de nombreuses publications,^(59, 82, 95, 169) une tendance du NO inhalé à diminuer la PAS et la résistance vasculaire systémique fut observée.

8.1.3.c Effets rénaux.

Nous avons montré un effet important du NO inhalé sur la fonction rénale.⁽⁸²⁾ Dans des conditions contrôles, le NO inhalé seul, à la dose de 40 ppm, a augmenté le débit sanguin rénal (+119%), le taux de filtration glomérulaire (+92%) et la diurèse (+70%) chez le Porc, indépendamment de ses effets sur l'hémodynamie pulmonaire et systémique. Lors d'hypertension pulmonaire induite par l'hypoxie⁽¹⁹⁸⁾ ou la phényléphrine,⁽⁸²⁾ le NO inhalé a montré des effets similaires sur les paramètres précédemment mentionnés à l'infusion intraveineuse de nitroglycérine (donnée à une dose induisant les mêmes effets que le NO inhalé sur la PAP). En rapport à la réponse rénale rapide lors d'application ou d'arrêt du NO inhalé, nous avons émis l'hypothèse que le NO inhalé peut être accompagné d'effets non

sélectifs, extra pulmonaires dus à la libération locale de NO à partir de formes de transport sur les territoires périphériques dont le lit rénal.

8.1.4 NO inhalé et inflammation pulmonaire.

L'article de revue (pages 64-66) présente les activités anti- et pro-inflammatoires du NO avant de proposer les sites potentiels d'action du NO inhalé lors d'inflammation. Le Tableau II reprend de façon détaillée les principaux effets anti-inflammatoires potentiels de NO dus à son pouvoir anti-oxydant mais aussi à son action directe sur les cellules inflammatoires et son influence sur l'expression génique pro- et anti-inflammatoire.

Principalement liée à son action vis-à-vis des PMNs, le NO inhalé a montré une dualité d'action sur un modèle d'ischémie-reperfusion pulmonaire chez le Rat.⁽¹⁹⁹⁾ Administré trente minutes après le début de la reperfusion, soit en plein cœur du métabolisme oxydatif, le NO inhalé a accentué la lésion par interaction avec O_2^- . Mais lorsqu'inhalé quatre heures après la reperfusion, le NO s'est révélé protecteur en contrant l'hypoperfusion pulmonaire post-ischémique et en réduisant le taux de séquestration pulmonaire des PMNs. Le NO inhalé a présenté une activité anti-radicalaire pulmonaire lorsqu'administré durant les 150 minutes de reperfusion,⁽¹⁰⁰⁾ probablement par une interaction avec O_2^- même si d'autres mécanismes sont possibles.^(200, 201)

Lors de transplantation pulmonaire expérimentale avec conservation du transplant pendant 24 heures à 4° C, l'inhalation de NO lors des quatre premières heures de reperfusion chez le Porc,⁽²⁰²⁾ ou débutant dix minutes après l'initiation de la reperfusion chez le Rat,⁽²⁰³⁾ s'est avérée bénéfique au niveau des échanges gazeux, de l'hémodynamie pulmonaire^(202, 203) et de la séquestration neutrophilique⁽²⁰²⁾ jusqu'à même 24 heures après la reperfusion. Le NO inhalé s'est montré tout aussi efficace dans d'autres conditions de transplantation pulmonaire chez le Rat,⁽⁷⁴⁾ le Chien,⁽²⁰⁴⁾ le Porc⁽²⁰⁵⁾ et l'Homme,^(206, 207) et il peut aussi servir de révélateur du dysfonctionnement endothélial dans ces conditions.^(208, 209) Lorsqu'administré chez le donneur (avant et pendant le recueil du transplant) et le receveur (avant, pendant et après la transplantation) le NO inhalé a également montré ces mêmes propriétés.^(210, 211)

Tableau II : Effets anti-inflammatoires potentiels du monoxyde d'azote.

Effets anti-inflammatoires du NO

-
1. Altération de la disponibilité du fer pour inhiber les réactions chimiques de Haber-Weiss et Fenton ainsi que l'oxydation lipidique induite par les enzymes membranaires cyclo- et lipo-oxygénases.
 2. Réduction de la production de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des oxydants (*e.g.* radical hydroxyle, OH) produits en aval, par interaction directe (production de peroxynitrite, ONOO) et indirecte (rétroaction négative sur sa synthèse enzymatique) avec l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$).
 3. Augmentation de voies anti-inflammatoires induites par le 3',5'-guanosine monophosphate cyclique (GMPc) aboutissant à une action tonique suppressive sur l'activation plaquettaire et leucocytaire, l'adhésion leucocytaire, l'agrégation et l'adhésion plaquettaire, la dégranulation des mastocytes.
 4. Arrêt de la peroxydation lipidique autocatalytique.
 5. Induction de l'expression génique anti-inflammatoire (*e.g.* hème-oxygénase endothéliale, cytokines) et inhibition de l'expression génique pro-inflammatoire (*e.g.* cytokines, molécules d'adhésion cellulaire).

Cette efficacité préventive du NO inhalé a été retrouvée dans des modèles d'ischémie-reperfusion⁽²¹²⁾ et de LPA induite par injection d'IL-1⁽²¹³⁾ sur poumons isolés de Rats, de LPA induite par injection d'endotoxine chez le Rat⁽²¹⁴⁾ et le Porc⁽²¹⁵⁾ ainsi que lors de choc induit par injection de *platelet-activating factor* chez le Porc.⁽²¹⁶⁾ Par contre, le NO inhalé fut inefficace en prévention de l'hypertension pulmonaire induite par injection de monocrotaline chez le Rat,⁽⁷⁶⁾ et de LPA induite par injection d'endotoxine chez le Lapin.⁽²¹⁷⁾ Il a même accentué les dommages lors de pré-traitement de poumons isolés de Lapin sur lesquels une LPA était induite par injection d'acide oléique.⁽²¹⁸⁾ Il perdure donc toujours une inconnue importante sur l'innocuité du NO inhalé en prévention. Cette donnée essentielle avant d'envisager (ou pas) une utilisation prophylactique exhaustive devra tenir compte de l'effet pro-inflammatoire du NO causé par une activité directe du NO mais surtout par sa réactivité avec les autres radicaux libres et la production de ONOO[·]⁽²¹⁹⁾ et d'O₂ singulet.⁽²²⁰⁾ L'administration concomitante de NO inhalé et d'un agent pharmacologique destiné à augmenter les défenses pulmonaires anti-oxydantes (enzymes anti-oxydantes, piègeurs de radicaux libres) pourrait être envisagée dans cette situation.

8.2 Futures directions.

Au vue des résultats obtenus dans les dernières études tant animales que cliniques, il apparaît qu'une des avenues potentielles d'utilisation du NO inhalé est la prévention du processus inflammatoire induit par certaines manœuvres thérapeutiques telles que celles mises en jeu lors de chirurgie cardio-pulmonaire. L'inhibition des dommages induits par l'ischémie-reperfusion imposée aux organes représente également un champ d'action très intéressant pour le NO inhalé.^(221, 222) Dans le cas précis de la transplantation d'organe, il serait même judicieux d'intervenir sur la voie métabolique NO / GMPc tout au long du processus, à savoir un pré-traitement du donneur avec du NO inhalé,^(210, 211, 223, 224) une conservation du transplant avec une source de NO exogène⁽²²⁵⁻²²⁸⁾ et une transplantation au receveur sous influence continue (pré-, per- et postopératoire) du NO inhalé.^(210, 211)

Une autre possibilité, actuellement sous évaluation expérimentale, est la combinaison du NO inhalé avec d'autres moyens thérapeutiques. La manipulation de la voie métabolique NO / GMPc a été testée par utilisation concomitante de NO exogène (qui stimule la

production de GMPc) et d'un inhibiteur de PDE-GMPc dépendante (l'enzyme spécifique à la dégradation du GMPc dans les cellules musculaires lisses vasculaires de Mammifères, connue sous le nom de PDE-V chez l'Homme et PDE-II chez le Porc) nommé zaprinast (Ziprinist[®]) qui va donc prolonger l'action du GMPc. D'abord testée sur la vasorelaxation d'anneaux artériels pulmonaires induite par l'infusion de nitroprussiate de sodium,⁽⁹¹⁾ puis en association avec le NO inhalé,^(65, 91) l'administration concomitante de zaprinast a, à chaque fois, montré un effet synergique avec le NO exogène. Il a ainsi potentialisé et prolongé l'effet vasodilatateur pulmonaire du NO inhalé sans altérer sa sélectivité pulmonaire.⁽⁶⁵⁾ Des résultats tout aussi encourageants ont été obtenus lors d'administration du zaprinast en aérosolisation,⁽⁷²⁾ et ce dernier, utilisé seul, a même montré une durée d'action plus longue que le NO inhalé seul. Un autre inhibiteur de PDE a montré un effet synergique avec le NO inhalé sur des patients présentant une hypertension pulmonaire réfractaire après chirurgie cardiaque.⁽²²⁹⁾ Il s'agit du dipyridamole (Persantin[®]) qui présente chez l'Homme la particularité de ne pas être un inhibiteur spécifique à la PDE-V mais aussi de la PDE-III, 3',5'-adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dépendante, en plus de diminuer la capture de l'adénosine.

Dès le début de son utilisation,⁽¹⁰⁾ le NO inhalé a été comparé à la PGI₂ sans doute à cause de leur similitude physiologique comme vasodilatateur d'origine endothéliale. De par sa sélectivité pulmonaire, le NO inhalé s'est avéré plus intéressant que l'injection intraveineuse de PGI₂ qui, elle, avait tendance à détériorer l'oxygénation.^(10, 230) Par la suite, il a été établi soit que le NO était supérieur à la PGI₂ en inhalation,^(49, 53, 85) soit qu'ils présentaient tous deux des actions similaires en conditions expérimentales⁽²³¹⁾ ou cliniques.⁽²³²⁻²³⁵⁾ Il a alors été proposé que la PGI₂ inhalée, moins contraignante d'utilisation que le NO, pouvait supplanter ce dernier comme vasodilatateur pulmonaire sélectif.⁽²³¹⁻²³⁶⁾ Toutefois, cette possibilité reste aléatoire car peu de données ont été compilées à date sur la PGI₂ inhalée. Comme pour le NO, de par leur nature endogène, on peut craindre des effets secondaires potentiels (et encore inconnus) de la PGI₂ inhalée.⁽²³⁷⁾ Par ailleurs, si le coût d'installation de la PGI₂ inhalée en aérosolisation (150 \$ pour un simple ajout à du matériel déjà disponible) est moindre que le NO (au moins 15 000 \$), son coût variable (3 000 \$ pour la PGI₂ vs. 75 \$ pour le NO par jour de traitement pour un Homme de 70 kg) limite énormément les

possibilités de traitement à long terme.⁽²³⁷⁾ Toutefois, on peut aussi concevoir des applications d'utilisation de la PGI₂ inhalée plus étendues (e.g. soins à domicile) que le NO en raison de sa facilité d'administration.⁽²³⁸⁾ Il a également été envisagé avec succès d'associer le NO inhalé et la PGI₂ en administration intraveineuse^(68, 239) ou orale.⁽²⁴⁰⁾ Étant donné que les deux composés agissent par des voies métaboliques différentes, NO / GMPc et PGI₂ / AMPc, leur association semble judicieuse pour obtenir une synergie d'action sur l'hypertension pulmonaire et/ou l'oxygénation. Il reste à vérifier ces effets additifs lors d'administration des deux composés par inhalation.

Une autre approche thérapeutique en présence d'une hypoxémie due à de l'incoordination ventilation / perfusion est l'utilisation de vasoconstricteurs estimés suffisamment sélectifs sur la circulation pulmonaire pour pouvoir accroître le phénomène de VPH et conséquemment l'oxygénation. De tels résultats ont été obtenus avec la PGF_{2α} lors d'évaluations expérimentales^(241, 242) et pour un cas clinique⁽²⁴³⁾ et de façon encore plus probante avec le bysmésylate d'almitrine.⁽²⁴⁴⁾ Combinée avec le NO inhalé, la PGF_{2α} fut inefficace dans un modèle de SDRA chez le Mouton induit par lavages pulmonaires répétées.⁽¹⁰⁹⁾ Au contraire le bysmésylate d'almitrine, soit seul,^(245, 246) soit en association avec le NO inhalé a amélioré grandement l'oxygénation de patients souffrant de SDRA.^(31, 247, 248)

Les techniques ventilatoires sont également importantes pour une utilisation optimale du NO inhalé.^(111, 249) De nombreuses études animales ont montré que de hautes FiO₂⁽²⁵⁰⁾ (des Rats exposés à 100% d'O₂ meurent généralement en 3 à 4 jours⁽²⁵¹⁾) et une ventilation en pression positive avec insufflation cyclique de larges volumes courants (VT) sont potentiellement néfastes,⁽²⁵²⁻²⁵⁵⁾ particulièrement lors d'utilisation sur de longues périodes,⁽²⁵⁶⁾ en présence de dommages préexistants⁽²⁵⁷⁾ ou d'autres agents nocifs.⁽²⁵⁸⁾ Parmi les techniques utilisables pour limiter le volotraumatisme⁽²⁵⁹⁾ induit par la respiration artificielle, on trouve l'approche dite de « protection du poumon » consistant en une réduction du VT insufflé (et conséquemment des pressions ventilatoires), ce qui peut perturber les échanges gazeux et aboutir à de l'hypercapnie et de l'acidose respiratoire : on parle « d'hypercapnie permissive ».⁽²⁶⁰⁻²⁶²⁾ Le NO inhalé⁽²⁶³⁾ a permis de réduire certains des effets secondaires dus à l'accumulation de dioxyde de carbone (CO₂) (Tableau III)⁽²⁶⁴⁾ permettant une amélioration de

Tableau III : Effets secondaires possibles de l'hypercapnie permissive.

Effets secondaires	Mécanisme d'apparition
Détérioration de l'oxygénation	Diminution des pressions ventilatoires Effet sur l'équation des gaz alvéolaires Déplacement de la courbe de dissociation de l'O ₂
Hémodynamiques (augmentation de la fréquence cardiaque *, des résistances vasculaires et des pressions pulmonaires et systémiques, du débit cardiaque *)	Libération de catécholamines †
Pression cérébrale augmentée	Vasodilatation directe
Besoins accrus en sédation / paralysie	Modes de ventilation inconfortables
Sevrage retardé	Faiblesse des muscles squelettiques
Distribution diminuée de l'O ₂	Dépression myocardique
Défaillance rénale	Débit sanguin rénal et filtration glomérulaire diminués
Réponse diminuée aux médicaments inotropes cardiaques, à la défibrillation * et aux antibiotiques	Acidose intracellulaire
Diminution du seuil des convulsions	Acidose intracellulaire

* Effets plus ou moins marqués ;

† L'acidose stimule la libération surrénalienne mais inhibe les actions périphériques des catécholamines.

l'hémodynamie et de l'oxygénation. Quoique non évalués dans cette étude,⁽²⁶³⁾ on peut également supputer un certain bienfait du NO de par ses effets extra pulmonaires.

Une autre approche consiste à maximiser le recrutement des alvéoles collabées permettant ainsi une meilleure adéquation ventilation / perfusion, d'où une oxygénation augmentée et une diminution possible de la FiO_2 . Pour ce faire, on peut avoir recours à des moyens utilisés en clinique comme la pression positive de fin d'expiration (PEEP),^(265, 266) la ventilation à haute fréquence oscillatoire,⁽²⁶⁷⁻²⁶⁹⁾ la mise du patient en décubitus ventral⁽²⁷⁰⁻²⁷²⁾ ou encore expérimentaux comme la ventilation liquidienne partielle.⁽²⁷³⁻²⁷⁵⁾ Dans tous les cas, le NO inhalé a montré une activité synergique sur les échanges gazeux, que ce soit avec la PEEP,⁽²⁴⁹⁾ la ventilation à haute fréquence oscillatoire,^(276, 277) le décubitus ventral,⁽²⁷⁸⁾ ou la ventilation liquidienne partielle.^(71, 92, 110) On peut aussi combiner plusieurs des facteurs précédemment cités,^(279, 280) et on aborde dès lors la notion « d'optimisation thérapeutique ». ^(281, 282) Nous présenterons dans la partie suivante (paragraphe 9.4) les possibilités qui s'offrent dans ce contexte d'association pour le cas précis des patients atteints de SDRA.

Pour notre part, nous avons axé nos efforts de recherche sur l'exploration approfondie des effets extra pulmonaires du NO inhalé. Dans le cadre du programme de cotutelle de doctorat, un projet est en cours au sein du Laboratoire de Pharmacologie et de Physiopathologie Cellulaires de l'Université Louis Pasteur – Strasbourg I. Il consiste à (1) reproduire sur des Rats, anesthésiés et sous respiration artificielle, les effets extra pulmonaires du NO inhalé que nous avons observé chez le Porc ;⁽⁸²⁾ (2) suivre les voies métaboliques du NO inhalé (étude pharmacocinétique) et (3) proposer un mécanisme d'action (mode de transport, mode de libération locale) pour les effets extra pulmonaires du NO inhalé (étude pharmacodynamique).

Nos hypothèses sont que (1) le NO inhalé va augmenter la diurèse des Rats et affecter leur fonction plaquettaire, et ce de façon dose-dépendante ; (2) la production de NO_2^- & NO_3^- , métabolites terminaux du NO inhalé, dans l'urine et le plasma et celle de NO dérivé des transporteurs plasmatiques (SNO-Hb, -albumine) dans les tissus vasculaires et certains organes spécifiques vont augmenter de façon dose-dépendante durant (et après) l'in-

halation de NO ; (3) l'ajout de thiols exogènes de faible poids moléculaire, tels que la *N*-acétyl-L-cystéine,^(144,283) va favoriser la disponibilité périphérique du NO, et de ce fait même proposer un mécanisme d'action pour les effets extra pulmonaires du NO inhalé.

Pour prouver ces hypothèses, des Rats anesthésiés, sous ventilation artificielle avec intubation oro-trachéale et suivis au point de vue cardio-vasculaire et température recevront du NO inhalé à la dose de 40 et 200 ppm, en présence ou en absence de *N*-acétyl-L-cystéine. Nous nous proposons de mesurer : le temps de saignement, l'agrégation plaquettaire et le niveau de GMPc plaquettaire⁽¹⁵³⁾ ainsi que le débit urinaire afin de mettre en évidence les effets extra pulmonaires du NO inhalé ; les taux de NO_2^- & NO_3^- sanguins et urinaires par chimiluminescence⁽⁸²⁾ pour la réalisation de l'étude pharmacocinétique ; les taux de HbNO et de DNIC fixé à l'albumine ou intracellulaire par spectroscopie de résonance para-électromagnétique (RPE)⁽²⁸³⁾ ainsi que la formation de NO dérivée des transporteurs de NO après capture de ce NO néoformé dans les tissus (aorte thoracique et abdominale, artères fémorales, veine cave, lit mésentérique, cœur, poumon, foie, rein, rate et muscle quadriceps) sous la forme stable paramagnétique du complexe mononitrosyl-fer-diéthyl-dithiocarbamate $[\text{NO-Fe-(DETC)}_2]$ et mesure du composé formé par spectroscopie RPE cryogénique⁽²⁸⁴⁾ pour la réalisation de l'étude pharmacodynamique.

9.0 Syndrome de détresse respiratoire aiguë.

Les atteintes respiratoires peuvent être classées en asthme, bronchite chronique, emphysème et SDRA⁽²⁸⁵⁾ qui représentent respectivement une atteinte inflammatoire aiguë des voies respiratoires, une inflammation chronique des voies respiratoires et des poumons avec pour la bronchite chronique une propension accrue à l'infection bactérienne et pour l'emphysème à la destruction tissulaire, et la manifestation d'un processus inflammatoire, d'origine pulmonaire directe ou d'origine extra pulmonaire, associée le plus souvent à l'apparition de défaillances multiviscérales.⁽²⁸⁶⁾ Les efforts de recherche fondamentale comme les travaux épidémiologiques et cliniques ont révélé l'extrême complexité du SDRA. Telle que soulignée dans nos articles,^(287, 288) l'étude du SDRA a pâti pendant vingt ans⁽²⁶⁵⁾ du flou entourant sa description, de l'hétérogénéité des populations et des traitements étudiés. De nombreux efforts ont été entrepris dans une voie d'uniformisation et de coordination lors des dix dernières années^(286, 289, 290) Si entre 1967 et 1993, seules 14 / 79 études sur le SDRA rapportent l'utilisation d'un score de lésion pulmonaire tel que décrit par Murray et coll.,⁽²⁸⁹⁾ 55% des études publiées en 1994 l'ont utilisé.⁽²⁹¹⁾ À ce jour, le SDRA décrit un syndrome clinique associé à une lésion morphologique de dommages alvéolaires diffus⁽²⁹²⁾ (DAD) regroupant un œdème alvéolaire et interstitiel, riche en cellules sanguines rouges et blanches (PMNs, monocytes et lymphocytes), en cellules épithéliales nécrotiques et en membranes hyalines (albumine, immunoglobuline, fibrine, fibrinogène, etc.) ainsi que, parfois, une déficience en surfactant,⁽²⁹⁰⁾ et correspondant radiographiquement à des infiltrats bilatéraux qui peuvent devenir confluents et réaliser en quelques heures l'aspect classique de « poumons blancs ».⁽²⁹³⁾

9.1 Signes cliniques.

À la présentation du patient, le SDRA (phase précoce) se manifeste comme une lésion aiguë et diffuse de l'endothélium et de l'épithélium des unités respiratoires terminales causant un œdème exsudatif riche en protéines par perte de perméabilité alvéolo-capillaire. Chez les victimes du SDRA, les DAD passent rapidement à travers trois phases histologiques (exsudative, fibro-proliférative et fibrotique) caractérisées par différents signes clinico-

physiologiques regroupant hypoxémie sévère, hypertension pulmonaire et défaillance ventriculaire droite, et compliance pulmonaire amoindrie.^(286, 288) La perte d'intégrité de la membrane alvéolo-capillaire entraîne une oblitération des alvéoles et microvaisseaux à l'origine des désordres observés : baisse de compliance, shunt intrapulmonaire engendrant l'hypoxémie, microthromboses, remaniement vasculaire et médiateurs vaso-actifs causant l'hypertension pulmonaire et consécutivement la défaillance ventriculaire droite. La plupart des patients atteints de SDRA (85 à 90%) survivent à la lésion initiale, directe ou indirecte, qui a précipité la défaillance respiratoire aiguë et évoluent dans la phase réparatrice où leur devenir varie (Tableau IV) entre une récupération complète (groupe 2) et une mort rapide due à une fibrose pulmonaire massive (groupe 5).⁽²⁹⁹⁾ Chez les patients qui récupèrent (groupes 2 et 3), la perte de perméabilité et la déficience des échanges gazeux s'améliorent (réponse adaptative). À l'inverse, la poursuite de la pathologie se manifeste par une progression de la fibro-prolifération,⁽³⁰⁰⁾ une incapacité à améliorer la fonction pulmonaire (groupes 4 et 5) et une issue néfaste (réponse inadaptée). La plupart des victimes meurent après une période prolongée de support respiratoire (groupe 4), pouvant développer de la fièvre, un SRIS, des manifestations cliniques de sepsis^(297, 298, 301) et un SDMO *arte-mortem*.^(294, 296-298)

9.2 Données épidémiologiques.

9.2.1 Devenir des patients atteints de SDRA.

L'intérêt porté au SDRA vient sans doute de la persistance d'un taux de mortalité élevé pour cette pathologie (en général au dessus de 50%^(290, 291)) malgré les progrès de la réanimation. Une analyse portant sur 101 études (3264 patients SDRA) réalisées entre 1967 et 1994 n'a montré aucun changement de la mortalité au fil des ans ($53 \pm 22\%$ avant 1990 ; $52 \pm 22\%$ entre 1990 et 1993 ; $51 \pm 27\%$ en 1994).⁽²⁹¹⁾ Toutefois, les auteurs soulignent les limites à apporter à leur analyse concernant particulièrement la distribution hétérogène des études retenues selon leurs critères de sélection, au cours du temps (seulement 10 entre 1967 et 1980) et le manque de pondération à attribuer selon les études. Ainsi, parmi les études avec la taille d'échantillon la plus élevée (207,⁽²⁹⁴⁾ 215,⁽²⁹⁵⁾ et 583⁽²⁹⁷⁾ patients), seule celle de Suchyta et coll.⁽²⁹⁵⁾ a été sélectionnée dans leur analyse.⁽²⁹¹⁾ Toutefois, leurs résultats⁽²⁹¹⁾

Tableau IV : Classification clinique du syndrome de détresse respiratoire aiguë.

Groupe clinique	1	2	3	4	5
Lésion initiale contrôlée	non	oui	oui	oui	oui
Pourcentage de patients	5-15%	10%	20-40%	40-60%	5-10%
Durée moyenne du SDRA	≤ 3 jours	≤ 7 jours	7 – 28 jours	7 – 28 jours	≤ 7 jours
Évolution	mort rapide	récupération rapide	amélioration lente	détérioration lente	mort rapide
Survie	non	oui	oui	non	non
Cause de la mort	lésion sous-jacente SDMO ⁽²⁹⁴⁾	—	—	10 ⁽²⁹⁴⁾ -40 ⁽²⁹⁵⁾ % pulmonaire 60-90 ⁽²⁹⁶⁻²⁹⁸⁾ % SDMO	pulmonaire ⁽²⁹⁹⁾
Découvertes histologiques	phase exsudative de la LPA	—	fibro- prolifération	55% fibrose extensive 69% pneumonie	fibrose massive

SDRA= syndrome de détresse respiratoire aiguë ; SDMO= syndrome de défaillance multi-organique ; LPA= lésion pulmonaire aiguë. Adapté d'après Meduri.⁽²⁹¹⁾

semblent en accord avec ceux précédemment obtenus : mortalité de 68,⁽²⁹⁴⁾ 53⁽²⁹⁵⁾ et 59⁽²⁹⁷⁾% qui monte autour de 70^(298, 302) voire 90⁽²⁹⁶⁾% en présence de sepsis.

Des données récentes d'études imposantes (423,⁽³⁰³⁾ 725⁽³⁰⁴⁾ et 918⁽³⁰⁵⁾ patients) suggèrent une baisse significative de la mortalité du SDRA (68% en 1987 *vs* 36% en 1993,⁽³⁰⁵⁾ 37⁽³⁰³⁾ et 40⁽³⁰⁴⁾%), mais pour laquelle les explications restent floues.⁽²⁹⁰⁾ Il faut souligner que l'étude de Knauss et coll.⁽³⁰³⁾ a inclus des patients atteints au sens large de la LPA (*i.e.* score d'hypoxie $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 \leq 300$ mmHg) et lorsqu'on restreint la définition de SDRA aux LPA sévères (*i.e.* $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 \leq 150$ mmHg), la mortalité atteint 52%. Si la mortalité des patients souffrant de SDRA âgés de moins de 60 ans et ceux dont le SDRA complique l'évolution d'un sepsis⁽³⁰⁵⁾ a diminué de 27% en une décennie, cette baisse n'est plus significative après ajustement pour l'âge et le score d'atteinte systémique ISS des patients. Par ailleurs, les investigateurs de l'étude⁽³⁰⁵⁾ ont été incapables de déterminer l'impact de toute thérapie expérimentale ou changement de traitement susceptible d'expliquer la baisse de mortalité. L'étude d'Anzueto et coll.,⁽³⁰⁴⁾ qui est à ce jour le plus gros essai clinique prospectif réalisé sur le SDRA, a confirmé les résultats de Milberg et coll.⁽³⁰⁵⁾ et la possibilité d'une baisse de la mortalité due à une amélioration des traitements de support (*cf* paragraphe 9.4), même si les patients en défaillance rénale ou hépatique ont été exclus de leur étude.⁽³⁰⁴⁾

Si la mortalité globale est élevée, il faut noter que la plupart des survivants aux LPA et SDRA récupèrent une fonction pulmonaire quasi normale dans les six mois suivant la sortie des soins intensifs.^(306, 307) Lorsqu'une altération persiste, il s'agit le plus souvent d'une discrète diminution des capacités de diffusion ou d'un syndrome restrictif de sévérité modérée (augmentation de la ventilation de l'espace mort à l'exercice).^(306, 308) L'ampleur des séquelles résiduelles semble corrélée à la sévérité initiale des LPA et SDRA⁽³⁰⁶⁾ ou la vitesse d'évolution, particulièrement la durée de ventilation mécanique.^(306, 309) Parce que la LPA et le SDRA font partie du même spectre clinique, les patients atteints des formes les moins sévères de ces conditions peuvent donc espérer une meilleure fonction pulmonaire résiduelle.⁽³¹⁰⁾ Les séquelles générales et psychosociales étant le plus souvent limitées, les survivants aux LPA et SDRA peuvent vivre de façon normale ou presque, avec une baisse limitée de leur qualité de vie par rapport à la population générale.^(311, 312)

9.2.2 Incidence, étiologie et facteurs de risques du SDRA.

L'incidence du SDRA aux États-Unis d'Amérique a été initialement évaluée par le *National Heart, Lung and Blood Institute* à 150 000 cas par année.⁽³¹³⁾ Cette estimation Américaine revue légèrement à la hausse,^(285, 314) ou prise telle quelle^(286, 315-317) confère une incidence annuelle de 70 cas pour 100 000 habitants au SDRA, qui contrastait fortement avec les résultats obtenus au cours d'une étude Anglaise rétrospective (4,5 cas pour 100 000 habitants)⁽³¹⁸⁾ et d'une étude prospective réalisée sur une population homogène à Las Palmas aux Îles Canaries (1,5 à 3,5 cas pour 100 000 habitants).⁽³¹⁹⁾ Des études plus récentes effectuées dans l'état du Utah (5 à 8 cas par 100 000 habitants)⁽³²⁰⁾ et à Berlin (3 cas par 100 000 habitants de la capitale Allemande)⁽³²¹⁾ ont confirmé que la valeur initiale rapportée pour le SDRA⁽³¹³⁾ correspondait plus volontiers à l'incidence de la LPA^(311, 321) et ont donc conduit à la remise en cause d'une telle incidence.^(286, 290)

De nombreuses études ont porté sur l'étiologie et les facteurs de risques cliniques du SDRA qui ont été passés en revue et standardisés au cours de la première Conférence Américo-Européenne de consensus sur le SDRA.⁽²⁸⁶⁾ Pepe et coll. à Seattle ont suivi 136 patients à risque de développer un SDRA et trouvé que le syndrome apparaissait plus fréquemment chez les patients présentant, dans cet ordre : 1) un syndrome septique (défini comme l'expression clinique d'une infection bactérienne sévère présentant des manifestations systémiques délétères telles que l'hypotension ou l'acidose métabolique) ; 2) une inhalation de contenu gastrique ; 3) des contusions pulmonaires multiples ; 4) des transfusions sanguines massives ; 5) des polytraumatismes sévères et 6) une noyade.⁽³²²⁾ Il a par la suite été établi que près de 80% des SDRA compliquent l'évolution des trois premiers états décrits précédemment.⁽³²³⁾ Ces facteurs de risques sont actuellement classés en facteurs directs et indirects, selon que le processus inflammatoire résulte d'une atteinte pulmonaire ou extra pulmonaire.⁽²⁸⁶⁾ Le SDRA survient généralement dans les 48 à 72 heures suivant l'apparition du facteur prédisposant, mais ce délai peut être de seulement une douzaine d'heures, notamment en cas de sepsis.⁽³²⁴⁾ Les principales étiologies reconnues sont regroupées dans le Tableau V.

Tableau V : Principales étiologies du syndrome de détresse respiratoire aiguë.

Agressions pulmonaires directes	Agressions pulmonaires indirectes
1. Infections pulmonaires :	1. Infections extra pulmonaires
◆ bactériennes	2. Transfusions sanguines massives
◆ virales	3. Polytraumatismes sévères
◆ mycosiques	4. Pancréatites aiguës
◆ parasitaires	5. Embolies pulmonaires
2. Inhalation :	6. États de choc sévères
◆ contenu gastrique	7. Ischémie-reperfusion
◆ toxiques	8. Brûlures étendues
◆ gaz, fumée, etc.	9. Autres causes :
3. Contusions pulmonaires multiples	◆ circulation extracorporelle
4. Noyades	◆ éclampsie
5. Brûlures respiratoires	◆ causes toxiques / médicamenteuses, etc.

Récemment, Hudson et coll.⁽³⁰²⁾ de la même institution à Seattle⁽³²²⁾ ont prospectivement évalué l'incidence du SDRA chez 695 patients présentant un ou plusieurs facteurs prédisposants classiquement identifiés dans la littérature.⁽³⁰²⁾ Sur les 695 patients à risques admis dans les unités de soins intensifs, 25,7% ont développé un SDRA, contre 6,8% pour une étude ultérieure réalisée au Colorado.⁽³²⁵⁾ Ils ont trouvé que les mêmes facteurs de risques étaient les plus communs, mais dans un ordre de fréquence différent : sepsis (42,6%) ; transfusions sanguines massives (40%) ; noyade (37,5%) ; contusions pulmonaires multiples (29,7%) ; une combinaison d'overdose de médicament et d'inhalation de contenu gastrique (33%) ; une population de patients polytraumatisés (23%) et l'association d'un trauma avec deux des facteurs de risques sélectionnés (40%).⁽³⁰²⁾ Cette étude a également souligné les prédispositions des patients alcooliques, un résultat confirmé par la suite,⁽³²⁶⁾ et des femmes, un phénomène difficilement explicable, à développer un SDRA.⁽³⁰²⁾

Il demeure que les états infectieux constituent la principale étiologie du SDRA (autour de 60%), qu'ils soient d'origine pulmonaire ou extra pulmonaire,^(296, 297, 323, 327) et que le risque de développer un SDRA augmente quand plus d'un des facteurs prédisposants précédemment cités sont présents.^(322, 323, 325, 328)

9.2.3 Facteurs pronostiques du SDRA.

Dans le groupe 4, le plus important en nombre, la majorité des patients (60 à 90%) meurent d'un SDMO associé au sepsis en deux⁽³²⁵⁾ ou trois⁽²⁹⁴⁾ semaines après l'apparition du SDRA. Seuls Suchyta et coll.⁽²⁹⁵⁾ ont rapporté la défaillance respiratoire comme une cause majeure de décès. Ceci explique qu'aucune mesure symptomatique (et notamment aucun mode de ventilation) n'ait permis isolément d'abaisser la mortalité au cours d'une étude prospective, randomisée avec groupe contrôle.

Différents travaux se sont attachés à définir les facteurs pronostiques de l'évolution du SDRA. La mortalité augmente avec l'âge,^(286, 295, 297, 315, 327, 329) avec certaines étiologies^(286, 297, 315) (sepsis *vs.* pneumopathie par inhalation), l'existence et la gravité d'une pathologie sous-jacente,^(286, 297, 315) l'existence ou le développement de sepsis^(286, 294-298, 316, 323, 327, 328, 330, 331) ou de SDMO,^(286, 294, 295, 297, 298, 315, 328, 330) et avec la sévérité du tableau clinique telle qu'elle est évaluée

par les scores de gravité^(286, 297, 302, 303) spécifiques à l'atteinte pulmonaire (index d'oxygénation,⁽³³²⁾ score « Geneva »⁽³³³⁾ ou de Murray⁽²⁸⁹⁾) ou reflétant l'état général du patient (scores APACHE II / III « *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* »,⁽³³⁴⁾ ISS « *Injury Severity Score* »⁽³³⁵⁾ MOF « *Multiple Organ Failure* »⁽³³⁶⁾ et SAPS I / II « *Simplified Acute Physiology Score* »^(303, 337)). Finalement, on a aussi relevé l'influence sur la mortalité de la présence concomitante d'une hépatopathie chronique,⁽²⁹⁸⁾ du développement d'une acidémie persistante (pH < 7,4) associée à une consommation du taux de bicarbonates sanguins (HCO_3^- < 20 mg/dl) traduisant probablement l'instauration d'une acidose métabolique, d'une leucopénie détectable sur frottis sanguin et d'une hausse du taux d'urée sanguine (> 65 mg/dl) avec une forte tendance vers une évolution similaire pour le taux de créatinine,⁽³³⁸⁾ autant de facteurs qui démontrent le degré d'atteinte systémique des patients souffrant de SDRA.⁽²⁹⁸⁾

En ce qui concerne les scores d'évaluation systémique, il a été rapporté une certaine utilité du APACHE II et du ISS comme facteurs de risques à développer un SDRA,⁽³⁰²⁾ et aussi des APACHE II^(294, 295, 303) / III,^(303, 304) ISS⁽²⁹⁴⁾ et SAPS^(297, 339) à prédire le devenir du patient en SDRA. Les scores d'évaluation pulmonaire (index d'oxygénation^(297, 332, 339) et score Geneva⁽²⁹⁷⁾) ont également montré une corrélation avec le devenir des patients, s'améliorant pour les survivants et restant constants pour les victimes du SDRA. Il en a été de même avec le score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$,⁽³⁴⁰⁾ lequel initialement ne semble pas être un facteur prédictif fiable mais son évolution dans les premières 48 heures serait mieux corrélée à la mortalité.⁽²⁸⁶⁾ Cependant, il s'avère que ces scores ne sont pas toujours fonctionnels, moins souvent pour les scores d'évaluation systémique,^(288, 291) que les pulmonaires.^(288, 291, 298) Ces derniers, particulièrement le score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ mais aussi les scores de Murray^(288, 291, 298) et Geneva.⁽²⁹¹⁾ sont valides comme mesure d'une anomalie des échanges gazeux mais ils ne reflètent pas nécessairement l'étendue de l'atteinte pulmonaire^(341, 342) et ne sont pas corrélés au devenir du patient atteint de SDRA.^(288, 291, 298) Ces données expliquent pourquoi ces scores sont considérés comme utiles pour mesurer le degré de sévérité de la LPA mais ils nécessitent l'ajout de facteurs prenant en compte le pronostic. Une solution à ce problème pourrait être le système de stratification GOCA considérant les échanges gazeux (*Gas exchange*), la défaillance viscérale (*Organ failure*), l'étiologie (*Cause*) et les pathologies associées (*Associated diseases*), tel que récemment proposé.⁽²⁹⁰⁾

Le Tableau VI résume tous les marqueurs potentiels prédictifs du développement d'un LPA / SDRA trouvés dans la littérature et dont Pittet et coll.⁽³⁴³⁾ ont réalisé une excellente revue.

9.3 Pathogénie.

Alors que la pathogénèse exacte du SDRA demeure inconnue, expliquant les difficultés de pronostic sur l'évolution de la maladie, les médiateurs cellulaires et humoraux dérivés à la fois des bactéries (eg. endotoxine ou LPS) et de l'hôte sont importants dans l'évolution du processus. En fait, la réponse de défense de l'hôte (RDH) à l'infection (ou la blessure) peut être un déterminant plus critique du devenir du patient que le *stimulus* original. Les nombreux effets du LPS sont largement indirects et orchestrés par sa capacité à déclencher la libération d'une myriade de médiateurs de l'inflammation dérivés de l'hôte.⁽²⁸⁷⁾ De nombreux mécanismes potentiels du SDRA ont été proposés depuis plus de 20 ans. Ils diffèrent légèrement selon l'origine directe ou indirecte du SDRA et la physiopathologie fait intervenir des interactions cellulaires complexes entre les PMNs, les cellules endothéliales et les autres éléments cellulaires de la réaction inflammatoire (monocytes, macrophages, lymphocytes, plaquettes) initiées par l'expression des molécules d'adhésion cellulaires. Ces interactions sont responsables de la synthèse de médiateurs inflammatoires agissant en cascade {composés vaso-actifs (kinines, lipides dérivés de l'acide arachidonique, peptides), radicaux libres dérivés de l'O₂ et de l'azote (O₂⁻, H₂O₂, OH, O₂ singulet, acide hypochloreux HOCl, NO, ONOO⁻, NO₂, N₂O₃, etc.) et diverses cytokines} et de l'activation d'autres systèmes (complément, enzymes protéolytiques, coagulation, fibrinolyse, etc.).^(287, 366)

9.3.1 Homéostasie tissulaire et réponse de défense de l'hôte.

L'état stable, ou homéostasie, est maintenu en coordonnant croissance, prolifération et apoptose cellulaires avec production et renouvellement de la matrice extracellulaire.⁽²⁹⁹⁾ Les cellules parviennent à une remarquable coordination à l'aide de signaux constants pour elles-mêmes (activité autocrine) et les autres (activité paracrine) au moyen de polypeptides appelées cytokines (aussi connues comme facteurs de croissance). Les interactions cellule-cellule et cellule-matrice, par l'intermédiaire d'un réseau complexe de cytokines, sont essen-

Tableau VI : Marqueurs potentiels du développement d'un LPA / SDRA.

Marqueur biologique	Site de prélèvement	Références
Endothélial :		
Ag-fvW	Plasma	(344, 345)
Épithélial :		
SP-A	LBA	(346)
Neutrophilique :		
élastase	Plasma	(347)
sélectine-L	Plasma	(348)
CD _{11b} / CD ₁₈	Plasma	(349, 350)
Inflammation :		
Cytokines :		
TNF- α	Plasma	(351, 352)
IL-1 β	LBA	(353-355)
IL-8	Plasma, LBA	(356-359)
Complément :		
C3a	LBA	(360)
Dérivés de l'acide arachidonique :		
leucotriènes	Plasma, LBA	(361, 362)
<i>Platelet-activating factor</i>	LBA	(363)
Stress oxydatif :		
H ₂ O ₂	Urine	(364)
réserves antioxydantes	Plasma	(365)

LPA= lésion pulmonaire aiguë ; SDRA= syndrome de détresse respiratoire aiguë; Ag-fvW= antigène du facteur de von Willebrand ; SP-A= *surfactant-associated protein A* ; LBA= lavage broncho-alvéolaire ; CD_{11b} / CD₁₈= récepteur de la sous famille intégrine β_2 ; TNF- α = *tumor necrosis factor- α* ; IL= interleukine ; H₂O₂= peroxyde d'hydrogène.

tielles non seulement au maintien de l'homéostasie mais aussi pour assurer une réponse de défense (stress) rapide contre les agressions intrinsèques et extrinsèques (infectieuses ou pas).⁽²⁹²⁾

La RDH à l'agression est similaire quelque soit le tissu impliqué et consiste en un réseau interactif de voies activées simultanément qui travaillent en synergie pour augmenter les chances de survie de l'hôte. Parmi cette cascade complexe de voies intégrées, cinq aspects de la RDH (Tableau VII) sont importants pour comprendre le développement clinique et l'évolution du SDRA : inflammation ;⁽²⁸⁷⁾ coagulation (caillot intravasculaire et dépôt extravasculaire de fibrine) ; modulation de la réponse immunitaire ; réparation tissulaire ; et activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénalien avec production de glucocorticoïdes. La libération de catécholamines par le système orthosympathique et la production hépatique d'agents impliqués dans la « réponse de phase aiguë »⁽³⁷¹⁾ font partie intégrante de la RDH. Le foie est par ailleurs un organe clef dans l'établissement du SDRA.⁽³⁶⁶⁾

Les cytokines ont des effets biologiques concentration-dépendants.⁽³⁷²⁾ A faible concentration, elles régulent l'homéostasie et, à plus forte dose, elles entraînent des effets plus importants, proportionnels à leur concentration, d'abord locaux puis systémiques. Parmi ces médiateurs proximaux dans le processus, les cytokines *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) et IL-1 apparaissent comme les plus importantes pour initier les aspects clefs de la RDH.^(372, 373) Responsables de nombreux effets, TNF- α et IL-1 β auto- et inter-stimulent leur production respective, ainsi que la production de cytokines plus distales telles qu'IL-6 et IL-8.^(292, 366) Le terme « cytokines inflammatoires » est trop restrictif puisque leur action dépasse le seuil de cette phase essentielle de la RDH pour intervenir aussi dans l'activation de la coagulation, la fibro-prolifération, et la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénalien.⁽²⁹⁹⁾ La cellule la plus communément impliquée dans l'initiation de la RDH est le phagocyte mononucléaire (macrophage tissulaire et monocyte circulant).⁽³⁷⁴⁾ Mais, une fois libérés, TNF- α et IL-1 β agissent sur les cellules épithéliales, endothéliales et les fibroblastes, la matrice extracellulaire, ainsi que des cellules circulantes recrutées (PMNs,⁽³⁷⁵⁾ plaquettes,⁽³⁷⁶⁾ lymphocytes⁽³⁷³⁾) pour causer une seconde vague de libération de cytokines, de médiateurs vaso-actifs et vasotrophiques (dérivés de l'acide arachidonique et *platelet-activating factor*), de

Tableau VII : Composantes de la réponse de défense de l'hôte.

Inflammation

- ◆ vasodilatation et stase sanguine
- ◆ expression augmentée des molécules d'adhésion cellulaires ; induction des enzymes « inductibles », cyclo-oxygénase (COX-2) et NO synthase (NOS2)⁽³⁶⁷⁾
- ◆ augmentation de la perméabilité alvéolo-capillaire avec œdème exsudatif
- ◆ extravasation leucocytaire *
- ◆ relâche leucocytaire de produits potentiellement nocifs pour les tissus à l'origine des réponses de phase aiguë, de stress oxydatif et de choc thermique.

Coagulation

- ◆ activation de la coagulation (par les endotoxines, le traumatisme, la cascade du complément, le facteur tissulaire, etc.)
- ◆ inhibition de la fibrinolyse
- ◆ caillot intravasculaire
- ◆ déposition extravasculaire de fibrine

Modulation de la réponse immunitaire

- ◆ fièvre
 - ◆ induction des protéines de choc thermique †
 - ◆ synthèse et libération de PMNs au niveau de la moelle osseuse
 - ◆ amorçage des phagocytes
 - ◆ prolifération des cellules-T
 - ◆ production d'anticorps
-

Réparation tissulaire

- ◆ angiogénèse
- ◆ croissance épithéliale, migration/apoptose
- ◆ migration et prolifération des fibroblastes
- ◆ dépôt et remaniement de la matrice extracellulaire

Activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénalien

- ◆ libération d'ACTH avec production de cortisol
- ◆ modulation par l'ACTH et le cortisol du système nerveux orthosympathique
- ◆ modulation par le cortisol de la production protéique hépatique † dans la réponse de phase aiguë
- ◆ modulation par les glucocorticoïdes des enzymes inductibles

* Initialement les cellules polymorphonucléaires puis plus tard les monocytes;

† La réponse cellulaire à la chaleur est associée à l'induction des *Heat Shock Proteins* dont la plus étudiée est la famille HSP70.^(368, 369) La production accrue de HSP est stimulée par de nombreuses lésions cellulaires et elle aiderait à établir une adaptation de la cellule lésée au stress en augmentant la fidélité de la synthèse protéique et facilitant la réparation de protéines endommagées ou dénaturées.⁽³⁷⁰⁾

‡ Les niveaux élevés de glucocorticoïdes circulants agissent en synergie avec l'IL-6 (et aussi IL-1 et TNF- α) pour induire la synthèse hépatique et la sécrétion des agents de la réponse de phase aiguë tels que le fibrinogène, les inhibiteurs de protéases, le complément C3, la céruloplasmine, les protéines trappeuses de métal (haptoglobine, ferritine) et la protéine réactive-C. La réponse de phase aiguë des cellules endothéliales inclut l'expression augmentée des molécules d'adhésion qui facilitent l'adhésion endothéliale des leucocytes et la libération de cytokines, de radicaux libres, de dérivés de l'acide arachidonique et de *platelet-activating factor*.⁽³⁷¹⁾

complément, à l'origine de la réponse de phase aiguë (avec participation des hépatocytes) associée à la « réponse de stress oxydatif » avec production de radicaux libres dérivés de l'O₂ et de l'azote,⁽³⁷⁷⁻³⁷⁹⁾ qui stimule aussi la « réponse de choc thermique » avec amplification de la RDH,⁽²⁹²⁾ ce qui peut aboutir à des phénomènes d'ischémie-reperfusion et à l'établissement d'un SRIS.⁽³⁸⁰⁾ La synthèse des cytokines est normalement étroitement contrôlée par un certain nombre de mécanismes régulateurs homéostatiques comprenant l'inhibition de récepteurs spécifiques aux cytokines sur les cellules de l'hôte, la synthèse d'antagonistes endogènes de cytokines, de cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-13), une rétroaction négative sur leur synthèse et la production de glucocorticoïdes.^(374,375)

9.3.2 Réponse de défense de l'hôte dans le SDRA.

Le SDRA est caractérisé par le déclenchement brutal d'une RDH diffuse et sévère du parenchyme pulmonaire en réponse à une atteinte d'origine directe ou indirecte qui endommage la membrane alvéolo-capillaire avec perte de compartimentalisation.⁽²⁹⁹⁾ L'étendue de la RDH initiale apparaît être un déterminant majeur de la progression et de l'issue du SDRA.

Des mesures en série des niveaux de cytokines pro-inflammatoires dans le plasma ou le fluide du lavage broncho-alvéolaire (LBA) lors de la phase initiale de la LPA et des phases suivantes peuvent aider à caractériser la sévérité de l'atteinte inflammatoire pulmonaire. Ainsi, Meduri et coll.^(381,382) ont rapporté qu'une élévation persistante des cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 et IL-8 dans le plasma et le LBA de patients en SDRA est un indicateur efficace d'une issue défavorable à plus ou moins long terme. Ce résultat confirme le paradigme qui veut que l'évolution du SDRA soit déterminée par l'étendue de la RDH pulmonaire initiale sous la forme de dénudation alvéolaire, de destruction de la membrane basale, de perméabilité vasculaire et de quantité d'exsudat intra-alvéolaire.⁽²⁹⁹⁾ Fait intéressant, durant la progression du SDRA, les futures victimes présentent une élévation marquée et persistante des niveaux de cytokines pro-inflammatoires dans le plasma et le LBA, alors que les survivants ont une réduction rapide de ces mêmes niveaux.^(381,382) D'autres études ont aussi rapporté que les victimes de SDRA ou de sepsis montrent une hausse persistante dans le temps de cytokines pro-inflammatoires (Tableau VIII) ou d'autres composantes de

Tableau VIII : Réponse de défense de l'hôte et issue du SDRA.

Variables aux jours 3 à 7 du SDRA	Survivants	Victimes	Références
Signes cliniques d'inflammation			
température corporelle	↓	↑	(383)
pression artérielle systémique moyenne	↑	-↓	(327, 383)
Signes biochimiques d'inflammation			
niveaux sanguins de cytokines pro-inflammatoires	↓	↑	(381, 384, 385)
niveaux dans le LBA de cytokines pro-inflammatoires	↓	↑	(382, 386)
niveaux sanguins de phospholipase A ₂	↓	↑	(384, 387)
niveaux sanguins de sélectines E / P	-	↑	(348, 388)
activation du complément	↓	ND	(385, 389)
niveaux sanguins d'endothéline-1	-	↑	(390)
réserves anti-oxydantes	-↑	↓	(364, 391, 392)
Signes cliniques de perméabilité alvéolo-capillaire			
balance positive de fluide	↓	↑	(327, 360)

Signes biochimiques de perméabilité alvéolo-capillaire

pourcentage de PMNs dans le LBA	↓	-↑	(386, 389, 393-395)
concentration d'albumine et de protéines totales dans le LBA	↓	-↑	(382, 393, 394, 396)
niveaux dans le LBA de SP-A et CC16	-	↓	(346, 395)
niveaux sanguins de SP-A, SP-B et CC16	-	↑	(398)
capture pulmonaire augmentée du gallium-67	↓	-	(399)

Signes biochimiques de coagulation

comptage plaquettaire	-↓	↓	(325, 400)
niveaux sanguins de Ag-fvW	↑	-	(344)
activité antifibrinolytique dans le LBA	↓	-↑	(401, 402)

Signes patho-physiologiques et radiographiques de fibro-prolifération

PaO ₂ / FiO ₂	↑	-↓	(327, 382-385, 394, 401)
niveau de PEEP	↓	-↑	(327, 385)
compliance pulmonaire statique	↑	↓	(403)
ventilation de l'espace mort	↓	↑	(403, 404)
pression de l'artère pulmonaire	↓	-↑	(327, 403)
niveaux sanguins de lactates	-↑	↑	(405, 406)
infiltration alvéolaire	↓	↑	(385, 407, 408)

Signes de laboratoire de fibro-prolifération

niveaux dans le LBA de procollagène-III	↓	↑	(399, 409)
niveaux sanguins de procollagène-III	↓	↑	(409-411)

Variable des jours 3 à 7 comparée au jour 1 : - = inchangée ; ↑ = augmentée ; ↓ = augmentée ; SDRA = syndrome de détresse respiratoire aiguë ; LBA = lavage broncho-alvéolaire ; ND = non disponible ; PMNs = polymorphonucléaires neutrophiles ; SP-A = *surfactant-associated protein A* ; CC16 = *Clara cell protein 16kDa* ; SP-B = *surfactant-associated protein B* ; Ag-fvW = antigène du facteur de von Willebrand ; PaO₂ / FiO₂ = score d'hypoxie ; PEEP = pression positive de fin d'expiration.

la RDH (*i.e.* phospholipase A₂, leucotriènes, complément, etc.).⁽³⁸⁵⁻³⁹⁰⁾ Toutefois, d'autres investigateurs n'ont pas retrouvé cette corrélation.⁽⁴¹²⁾ Il est également possible de suivre l'évolution du SDRA par la mesure des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 ou l'antagoniste du récepteur de l'IL-1,^(413, 414) mais ces paramètres nécessitent plus d'investigation pour s'assurer de leur fiabilité.⁽³⁴³⁾

Quoi qu'il en soit, l'observation globale des changements observés permet de comprendre pourquoi des traitements de courte durée sont inefficaces dans le SDRA. Il est maintenant reconnu que la RDH n'est pas limitée au poumon dans le SDRA.^(287, 290, 292, 299, 366) Chez les patients avec un SDRA en évolution continue, la perte d'intégrité de la membrane alvéolo-capillaire entraîne la libération de cytokines dans la circulation systémique et contribue au développement et/ou au maintien des SRIS et SDMO. Ces évidences supportent également la notion qu'une RDH hyper-agressive et prolongée, plutôt que la condition étiologique précipitant la détresse respiratoire, est le facteur influençant le plus l'issue du SDRA.^(392, 301) En l'absence de mécanismes inhibiteurs, la poursuite d'une production exagérée de médiateurs de la RDH empêche toute restauration correcte de l'anatomie et de la fonction pulmonaire (réponse inadaptée) en maintenant le développement des lésions, la coagulation et la fibro-prolifération (les trois agissant en synergie).

La coagulation intravasculaire diminue la disponibilité du lit vasculaire pulmonaire alors que le dépôt de fibrine intra-alvéolaire facilite l'organisation cellule-matrice vers la fibro-prolifération.⁽²⁹⁹⁾ Lors de SDRA, les activités fibrinolytique intra-alvéolaire normale et anti-hémostatique endothéliale sont fortement compromises et aboutissent à un dépôt vasculaire et extravasculaire de fibrine accéléré.⁽⁴¹⁵⁾ Les patients souffrant de SDRA présentent aussi une activité procoagulante systémique augmentée et un épuisement rapide des ressources fibrinolytiques,⁽²⁹⁹⁾ ainsi qu'une hausse des niveaux de produits de dégradation de la fibrine circulants.⁽⁴⁰⁰⁾ Le syndrome de coagulation intravasculaire disséminée est fréquent lors de SDRA et responsable d'une mortalité élevée.⁽²⁹⁹⁾

La fibro-prolifération est la réponse stéréotypée de réparation face à une lésion. Dans le SDRA, la fibro-prolifération pulmonaire est manifeste avec une accumulation de

myofibroblastes et de leurs produits de connexion tissulaire dans les espaces aériens, l'interstitium, les bronchioles respiratoires et les parois des microvaisseaux intra-acinaires. Ce processus suit le mécanisme pathogénique commun de toutes les maladies fibro-prolifératives, où le degré et la durée de la RDH gouverne l'issue de la phase réparatrice ultime.⁽⁴¹⁶⁾ Dans ce concept « linéaire » de réponse tissulaire à la lésion, les médiateurs de la RDH s'assurent de l'évolution vers le processus fibrotique. La sévérité de la LPA va déterminer l'intensité de l'inflammation chronique et de la fibrose.⁽²⁹⁹⁾ Les patients en SDRA, décédés après sept jours de défaillance respiratoire, présentent, à l'opposé des survivants, une élévation persistante des composantes de la matrice extracellulaire (procollagène-III) dans le LBA et le plasma (*cf.* Tableau VIII), signe de fibrogénèse.^(399, 409-411) Les patients avec un niveau de procollagène-III dans le LBA supérieur à 1,75 U/ml au jour sept ont un taux de mortalité de 72% comparé à 20% pour ceux avec un niveau de procollagène-III inférieur à 1,75 U/ml.⁽³⁹⁹⁾

9.4 Traitement.

Devant l'absence de mesures spécifiques face à la perméabilité alvéolo-capillaire et au processus inflammatoire caractéristiques du SDRA, le traitement consiste en des mesures de support destinées à maintenir une fonction cellulaire physiologique (*e.g.* échanges gazeux et perfusion d'organe satisfaisants pour le métabolisme aérobie) en tentant de faire régresser la LPA.⁽⁴¹⁷⁾ La thérapie conventionnelle repose dès lors sur deux principes : (1) dans la mesure du possible, identifier et traiter la (les) cause(s) sous-jacente(s) spécifique(s) qui précipite(nt) ou perpétue(nt) un SRIS et/ou la LPA (élément indispensable à la guérison du parenchyme pulmonaire) et (2) instaurer un traitement symptomatique incluant la respiration artificielle, le support hémodynamique, nutritionnel et psychologique et les procédures pour prévenir les complications secondaires (pour permettre des échanges gazeux et circulatoires compatibles avec la survie du malade).^(317, 418, 419)

9.4.1 Stratégie ventilatoire pour le SDRA.

Une ventilation mécanique à pression positive (afin de vaincre la baisse de compliance pulmonaire) et à haute FiO₂ (afin de maintenir l'oxygénation) constitue la pierre angulaire du traitement de la majorité des patients atteints de SDRA. Une ventilation en mode VC

avec un débit inspiratoire élevé, un VT de 12 à 15 ml/kg, une fréquence respiratoire (FR) adaptée en fonction de la pression partielle artérielle en CO₂ (PaCO₂) et/ou du pH et un niveau de PEEP permettant la correction de l'hypoxémie avec une FiO₂ non toxique constituait donc le standard d'assistance respiratoire mécanique au cours du SDRA. Toutefois, comme précédemment indiqué (cf. paragraphe 8.2), des doutes ont été émis⁽²⁵¹⁻²⁵⁸⁾ au sujet des lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique appliquée dans de telles conditions. Dreyfuss et coll.⁽²⁵⁹⁾ ont montré que les pressions d'insufflation ne jouent pas un rôle majeur dans la genèse des lésions, mais que l'hyperinflation pulmonaire est responsable de ce qu'il convient d'appeler un volotraumatisme plutôt qu'un barotraumatisme. En effet, la quantité de parenchyme ventilable au cours du SDRA est parfois réduite de deux-tiers.⁽⁴⁰²⁾ L'application d'un VT physiologique à un nombre réduit d'alvéoles qui conserve une compliance et une fragilité normales expose ces unités au risque de surdistension et d'hyperinflation régionale. Le rôle respectif des différents volumes pulmonaires (VT, volumes téléexpiratoire et téléinspiratoire) est également mieux compris.⁽⁴²⁰⁾ L'augmentation de la PEEP chez des Rats ventilés avec un faible VT favorise la survenue d'un œdème pulmonaire.⁽⁴²⁰⁾ Par ailleurs, l'application d'un VT physiologique avec une PEEP en deçà du point d'inflexion de la courbe Pression – Volume, peut aggraver les lésions parenchymateuses.⁽⁴²¹⁾ Ces données suggèrent que le volume téléinspiratoire et les phénomènes cycliques de recrutement – dérecrutement sont des déterminants majeurs des lésions de volotraumatisme.^(422, 423)

9.4.1.a Bases de la stratégie ventilatoire.

L'approche initiale a fait place à une stratégie où la normalisation des échanges gazeux n'est plus la seule considération importante et où les potentiels effets secondaires de la ventilation sont mis en balance avec le bénéfice escompté. Quel que soit le mode de ventilation utilisé, la stratégie ventilatoire est aujourd'hui guidée par des critères qui font l'objet d'un consensus.^(266, 424) L'objectif principal de la ventilation mécanique au cours du SDRA reste la réversion de l'hypoxémie qui nécessite souvent l'utilisation d'une FiO₂ élevée. Les effets toxiques de l'oxygénothérapie ont fait récemment l'objet d'une mise à jour exhaustive et justifient les efforts visant à maintenir la FiO₂ en dessous de 0,65.⁽⁴²⁵⁾ Afin de prévenir les complications liées aux pressions d'insufflation élevées, il a été conseillé de ne

pas dépasser 30 à 35 cm H₂O pour la pression de plateau⁽⁴²⁶⁾ ou 40 à 45 cm H₂O pour la pression de pointe.⁽⁴²⁷⁾

Kollef et Shuster⁽⁴¹⁷⁾ recommandent une ventilation mécanique initiale VC en mode assisté – contrôlé ou obligatoire – intermittent afin de diminuer le travail respiratoire du patient et pour laquelle on peut apporter des changements subséquents.

❖ *Volume courant.* – Pendant des années, un VT de 12 à 15 ml/kg était conseillé pour les patients sous respiration artificielle.⁽⁴²⁸⁾ Due à l'hétérogénéité des altérations régionales des poumons atteints de SDRA, il a été pensé qu'un VT plus petit serait plus efficace au niveau de la performance hémodynamique et moins dommageable au niveau pulmonaire.^(429, 430) Il est maintenant courant de choisir un VT autour de 6 à 10 ml/kg⁽⁴¹⁷⁾ et de le changer périodiquement afin de satisfaire aux exigences précitées. La FR peut être augmentée afin de conserver des valeurs de gaz sanguins dans les normes usuelles ; de 8 à 14 en conditions normales, la FR atteint souvent 25 à 35 respirations par minute (rpm) chez les patients en SDRA. On peut aussi laisser la PaCO₂ monter et privilégier l'approche de protection du poumon (cf. paragraphe 8.2) utilisant (1) une PEEP à 16 ou 17 cm H₂O dont le niveau est ajusté selon le point d'inflexion sur la courbe Pression – Volume et pour lequel le poumon est supposé être le plus compliant ; (2) un VT inférieur à 6 ml/kg ; (3) une ventilation en PC.⁽²⁶⁰⁻²⁶²⁾ Face à cette technique récente, les avis sont partagés. Certains la déconseillent à cause de ses potentiels effets secondaires (Tableau III),⁽²⁶⁴⁾ d'autres en l'absence de données plus approfondies la recommandent uniquement pour les patients ayant une pression de pointe supérieure à 40 – 45 cm H₂O avec le traitement conventionnel,⁽⁴¹⁷⁾ voire la considèrent nécessaire dans ces conditions,⁽³¹¹⁾ l'acidose respiratoire résultante pouvant être traitée par injection de bicarbonates,^(311, 417) épuration extracorporelle de CO₂ (ECCO₂R),⁽⁴¹⁷⁾ ou réduite significativement par l'utilisation conjointe de NO inhalé⁽²⁶³⁾ ou d'insufflation intra-trachéale d'O₂.⁽²⁶²⁾

❖ *Pression positive de fin d'expiration.* – La PEEP est utilisée pour augmenter le volume pulmonaire et garder les alvéoles ouvertes. Depuis plus de vingt ans,⁽²⁶⁵⁾ la PEEP améliore

les échanges gazeux des patients en SDRA. Sa mise en place prophylactique n'a toutefois pas eu les effets escomptés,⁽⁴³¹⁾ mais son utilisation de routine à des niveaux inférieurs à 5 cm H₂O peut limiter le développement d'atélectasie et est probablement sans danger.⁽⁴¹⁷⁾ Il est également rapporté que ces effets bénéfiques sont temporaires et qu'elle n'a pas amélioré la survie à long terme des patients en SDRA par rapport au groupe contrôle sans PEEP.⁽⁴³²⁾ Si son emploi est cautionné,⁽⁴³³⁾ il demeure que pour être efficace dans le SDRA, atteinte hétérogène du poumon, la PEEP nécessite un ajustement de son niveau balançant ses effets régionaux de recrutement et d'hyperinflation alvéolaires. L'étude de Gattinoni⁽⁴³⁴⁾ a montré que le recrutement alvéolaire était maximal pour des niveaux de PEEP de 15 à 20 cm H₂O. Il n'y a donc aucune raison pour utiliser des valeurs supérieures chez les patients SDRA.⁽³¹¹⁾ Devant l'absence d'études prospectives sur comment et quand utiliser la PEEP, la plupart des cliniciens vont procéder par paliers successifs de 2 à 3 cm H₂O (dans des limites de 5 à 15 cm H₂O) jusqu'à obtenir une saturation artérielle d'hémoglobine en O₂ supérieure à 0,9 avec des limites convenables de FiO₂ et de pressions d'insufflation. Enfin, le choix de la PEEP optimale doit tenir compte autant de ses effets sur l'oxygénation que sur l'hémodynamie évaluée soit cliniquement (pression artérielle systémique, débit urinaire) soit directement (monitoring invasif).

En rapport avec les points mentionnés précédemment, plusieurs études importantes viennent d'être publiées. La première⁽⁴³⁵⁾ est une analyse rétrospective des données de l'étude d'Anzueto et coll.⁽³⁰⁴⁾ pour déterminer l'incidence des pressions d'insufflation sur le développement de barotraumatismes tels que le pneumothorax chez les patients en SDRA. Il n'y eut aucune corrélation entre l'apparition de pneumothorax et l'utilisation de pressions de pointe ou de PEEP élevées. De plus, la présence d'un pneumothorax n'interfère pas avec la mortalité. Trois études prospectives randomisées portent sur l'hypercapnie permissive. Brochard et coll.⁽⁴³⁶⁾ (108 patients) ainsi que Stewart et coll.⁽⁴³⁷⁾ (120 patients) n'ont pas décelé d'effets bénéfiques de l'approche de protection du poumon par rapport au traitement conventionnel sur la mortalité du SDRA. Les conclusions de ces études Française et Canadienne sont cependant limitées par le rapprochement des conditions entre les deux groupes. Par exemple, la pression de plateau moyenne fut de 28,5 cm H₂O dans le groupe

contrôle vs. 22,3 dans le groupe expérimental.⁽⁴³⁷⁾ Comme le V_T moyen fut de 10,8 ml/kg dans le groupe contrôle,⁽⁴³⁷⁾ on peut en conclure que la pression de plateau développée dans ces conditions est suffisamment basse pour limiter les lésions. Toutefois, ces deux études ne permettent pas d'évaluer l'impact de l'hypercapnie permissive sur les patients les plus à risques pour les lésions induites par le respirateur, à savoir ceux avec une faible compliance pulmonaire. L'étude Brésilienne d'Amato et coll.⁽⁴³⁸⁾ a comparé un groupe contrôle de 24 patients atteints de SDRA (PEEP = 7 cm H₂O ; V_T = 12 ml/kg ; pression de plateau = 44 cm H₂O) avec un groupe expérimental de 29 patients (PEEP = 16 cm H₂O ; V_T < 6 ml/kg ; pression de plateau = 32 cm H₂O). Il a été observé une baisse de la mortalité à 28 jours de 71% pour le groupe contrôle à 38% pour le groupe expérimental, mais plusieurs biais ont été relevés dans l'étude :⁽⁴³⁹⁾ en premier lieu, la mortalité du groupe contrôle était élevée ce qui questionne la réalité de la différence observée sur ce paramètre entre les deux groupes et le nombre élevé de décès qualifiés d' « évitables » (même si ceux-ci furent plus nombreux dans le groupe expérimental que contrôle) ; l'échantillon est relativement petit ; l'estimation de la valeur de PEEP nécessaire à partir de la courbe Pression - Volume n'est pas chose aisée ; et finalement les bénéfices rapportés sur la mortalité concernent les trois premiers jours de traitement, ce qui n'est pas un résultat attendu en regard à la tactique d'hypercapnie permissive adoptée. Quoi qu'il en soit, cette étude confirme aussi les résultats de l'analyse rétrospective de Krafft et coll.⁽²⁹¹⁾ où les patients SDRA ventilés en mode PC ont présenté une mortalité significativement plus basse ($35 \pm 20\%$) que les patients ventilés en mode VC ($54 \pm 22\%$) ou ceux dont le mode de ventilation n'était pas spécifié ($59 \pm 19\%$).

Il apparaît donc à la lumière de ces derniers résultats que (1) l'utilisation de V_T < 10 ml/kg n'est pas une nécessité pour la majorité des patients souffrant de SDRA ; (2) l'hypercapnie permissive reste une technique prometteuse pour laquelle la compilation de 800 patients dans une étude Américaine en cours⁽⁴³⁹⁾ permettra probablement d'asseoir une position définitive quant-à son utilisation optimale ; (3) la limite supérieure du niveau de PEEP peut être raisonnablement augmenter jusqu'à 20 cm H₂O.

- ❖ *Ratio temps inspiratoire / temps expiratoire.* – La manipulation du temps inspiratoire (ou du ratio I / E) peut aussi favoriser le mélange des gaz et la coordination ventilation / perfusion en permettant une meilleure diffusion du VT au sein d'alvéoles dont les constantes temps différent et en maintenant ces alvéoles ouvertes pendant une partie plus longue du cycle respiratoire. Son effet secondaire majeur est la possibilité d'une trappe des voies aériennes emprisonnant une portion des gaz dans les petites voies respiratoires à la fin de l'expiration. C'est ce qu'on appelle la PEEP intrinsèque ou auto-PEEP. Utilisé le plus souvent en mode PC, le ratio I / E inversé avait présenté des résultats encourageants lors d'études sans contrôle ou de séries de cas.⁽⁴⁴⁰⁻⁴⁴²⁾ Toutefois, son évaluation lors d'études contrôlées⁽⁴⁴³⁻⁴⁴⁵⁾ n'a pas confirmé les résultats initiaux et comme elle entraîne certains effets secondaires sur l'hémodynamie et des contraintes de sédation profonde (voire curarisation) du patient, cette technique semble vouée à une utilisation limitée, comme lors de phase aiguë du SDRA où il existe une quantité significative de parenchyme atelectasié mais recrutables.⁽⁴⁴⁶⁾

9.4.1.b Stratégies ventilatoires non conventionnelles.

- ❖ La *ventilation à haute fréquence oscillatoire* utilise des FR jusqu'à 3 600 rpm et des VT qui approchent la valeur de l'espace mort anatomique (1 à 5 ml/kg). Si cette technique s'est avérée très efficace pour réduire les lésions induites par le respirateur avec les nouveau-nés,⁽⁴⁴⁷⁾ elle n'a montré aucun avantage réel par rapport aux approches conventionnelles chez l'adulte,^(268, 269) d'autant qu'elle pose un certain nombre de problèmes pratiques (réglage du ventilateur, humidification des gaz inspirés, mesure des pressions et volumes intrathoraciques) et requiert une certaine expérience pour améliorer l'oxygénation et éviter les complications iatrogènes (dessiccation des muqueuses, trachéite hémorragique, volotraumatisme).
- ❖ L'*insufflation intra-trachéale d'O₂* consiste à envoyer un faible (2 à 14 L/min) débit d'O₂ par l'intermédiaire d'un cathéter dont l'extrémité distale est située au dessus de la carène lors de l'expiration. Ceci permet de laver l'espace mort anatomique du CO₂ qu'il contient et explique l'intérêt de son utilisation conjointe avec l'hypercapnie permissive.⁽²⁶²⁾ Les premiers résultats expérimentaux ne révélaient qu'une modeste variation des

pressions d'insufflation (1 à 2 cm H₂O pour la pression de pointe) associée à une diminution de l'acidose respiratoire ;⁽⁴⁴⁸⁾ l'utilisation clinique sur des patients en SDRA traités par hypercapnie permissive a non seulement montré une baisse de 30% de la PaCO₂ (d'autant plus conséquente que le niveau initial est élevé), une hausse du pH (de 7,2 à 7,34) et de la PaO₂ (+44%) mais aussi une augmentation significative de la pression de plateau (de 26 à 32 cm H₂O).⁽²⁶²⁾ Seul bémol, ceci semble exposer les patients à des risques supplémentaires de volotraumatisme à moins de s'assurer d'un niveau de PEEP revu à la baisse.⁽²⁶²⁾

- ❖ *Circulation extracorporelle.* – Théoriquement la façon la plus efficace de limiter les lésions induites par la respiration artificielle est d'éviter cette dernière et d'assurer les échanges gazeux par CEC. Cette stratégie a été testée lors d'un essai clinique prospectif, randomisé, multicentrique de comparaison de la CEC avec oxygénateur à membrane (ECMO) *vs.* la ventilation mécanique avec PEEP rapporté en 1979.⁽⁴⁴⁹⁾ L'ECMO améliora l'oxygénation sans modifier une mortalité élevée dans les deux groupes (91%) pour laquelle on a mis en cause une FiO₂ trop haute.⁽⁴⁴⁹⁾ Des essais subséquents avec l'ECCO₂R et des concentrations non toxiques d'O₂ ont montré une survie augmentée par rapport à des contrôles historiques.^(450, 451) Ces résultats ont fait que l'ECCO₂R est utilisé par plusieurs centres Européens pour traiter le SDRA de l'adulte, tout comme l'ECMO est employée en Amérique du Nord pour le SDRA néonatal.⁽³¹¹⁾ Cependant une étude prospective randomisée avec groupe contrôle de l'ECCO₂R sur des patients pour lesquels la ventilation PC avec ratio I / E inversé s'était révélée inefficace⁽⁴⁵²⁾ a montré une mortalité diminuée dans les deux groupes (62%) mais pas d'avantage pour l'ECCO₂R. Morris et coll.⁽⁴⁵²⁾ ne sont pas parvenus non plus à obtenir une amélioration de l'oxygénation ou une diminution du risque barotraumatique rapportée par d'autres,^(450, 451) et ont relevé un taux de complications hémorragiques particulièrement élevé. Cette technique sophistiquée et coûteuse tirerait peut-être avantage à être réévaluée au sein d'équipes expérimentées mais pour l'instant, il semble difficile de cautionner son utilisation.⁽⁴⁵²⁾ Les résultats obtenus avec l'oxygénation apnéique ou intravasculaire à travers une membrane artificielle (IVOX) sont encore moins probants car entraînant une amélioration soit limitée,⁽⁴⁵³⁾ soit entachée de sérieux effets secondaires.⁽⁴⁵⁴⁾

- ❖ Les *changements de position* du patient souffrant de LPA / SDRA améliorent les échanges gazeux en raison de l'hétérogénéité des DAD et d'une meilleure adéquation régionale ventilation / perfusion selon le gradient de pesanteur. Un placement en décubitus latéral peut être particulièrement intéressant lors de distribution non uniforme des infiltrats entre les deux poumons sur la radiographie, le poumon inférieur, le moins atteint, étant mieux perfusé et ventilé. La position sternale a longtemps été perçue comme devant être limitée aux seuls centres spécialisés et expérimentés (cette technique imposant une grande vigilance des équipes soignantes lors des manœuvres afin d'éviter les extubations accidentelles, l'arrachement ou la plicature des cathéters et le risque d'escarre du visage)^(311, 417, 419) mais devant la qualité des résultats obtenus avec certains patients,⁽²⁷⁰⁻²⁷²⁾ la meilleure connaissance de ses mécanismes d'action,⁽²⁷¹⁾ la persistance de ses effets dans le temps,⁽²⁷²⁾ cette technique semble vouée à une utilisation plus étendue⁽⁴⁵⁵⁾ particulièrement en association avec d'autres agents thérapeutiques.⁽²⁷⁸⁻²⁸²⁾
- ❖ Finalement, les dernières possibilités de thérapeutique ventilatoire concernent l'utilisation du *NO inhalé* que nous détaillerons par la suite (*cf.* paragraphe 9.5) et de la *ventilation liquidienne partielle*. Basée sur l'instillation de perfluorocarbones liquides, cette nouvelle approche de support ventilatoire permettant une limitation des forces de tension alvéolaires quoique toujours expérimentale^(71, 92, 110, 273-275) est très prometteuse (quoique toujours spéculative) en utilisation clinique.⁽⁴⁵⁶⁾

9.4.2 Traitement pharmacologique du SDRA.

Outre la stratégie ventilatoire et le traitement étiologique, le traitement symptomatique des patients atteints de SDRA, élément déterminant du pronostic, repose sur des mesures thérapeutiques générales et sur une tentative de modulation de la RDH.

9.4.2.a Mesures thérapeutiques générales.

- ❖ *Optimisation du transport de l'O₂*. – Une analyse détaillée des aberrations physiologiques dans le SDRA avait noté d'une part des perturbations dans l'extraction tissulaire de l'O₂⁽⁴⁵⁷⁾ et d'autre part une dépendance pathologique entre la distribution de l'O₂ (DO₂) et sa consommation (VO₂),^(458, 459) mais les rapports sur ce dernier sujet sont discordants.^(460, 461) La littérature actuelle reflète des différences d'opinion significatives quant

au niveau global de DO_2 à conserver chez les patients en SDRA.^(460, 462) Des données récentes^(463, 464) et une méta-analyse de plusieurs études⁽⁴⁶⁵⁾ suggèrent qu'une augmentation non spécifique de DO_2 n'est pas garante d'une hausse de VO_2 et surtout n'est pas bénéfique au patient. Il n'existe donc pas suffisamment d'arguments pour considérer l'augmentation de DO_2 à des valeurs supranormales comme un objectif thérapeutique.^(290, 417) En pratique, en dehors des signes cliniques et paracliniques d'hypoperfusion tissulaire, cette attitude semble injustifiée lorsque l'index cardiaque est significativement élevé ($> 3,5$ L/min/m²). Un niveau de DO_2 global et adéquat pour les patients en SDRA ne peut donc être fixé à cause des relations complexes entre les débits sanguins systémique et régional, l'oxygénation tissulaire et la demande métabolique locale. En raison de ces interactions complexes et de la coexistence d'un SDMO, il n'est pas possible de définir un niveau optimal de remplissage ventriculaire, d'hématocrite, ou de fixer un choix sur le type de fluide à perfuser (colloïde ou cristalloïde) de façon universelle pour le patient atteint de SDRA.⁽⁴⁶⁶⁾

- ❖ *Support cardio-vasculaire.* – Il existe aussi une controverse au sujet de l'instabilité hémodynamique devant être corrigée rapidement par un apport liquidien et/ou une thérapie d'agents inotropes et vasopresseurs. Plusieurs études rapportent une amélioration de la fonction pulmonaire et une survie augmentée lors de stratégie de restriction hydrique visant à diminuer les risques d'œdème pulmonaire.^(467, 468) Cette approche, qui ne semble pas associée à une instabilité hémodynamique ou à une majoration de l'incidence de l'insuffisance rénale aiguë, est évidemment contre-indiquée en cas d'hypovolémie, ne peut se concevoir que si l'adéquation de la perfusion et de l'oxygénation tissulaire est soigneusement monitorée,^(417, 469) et ne devrait pas s'étendre au-delà des trois, quatre premiers jours, période où l'œdème pulmonaire est prévalent.^(311, 417) La question de la nature du monitoring reste à débattre mais il est recommandé de limiter le monitoring invasif seulement aux évaluations cardio-vasculaires nécessaires.⁽²⁹⁰⁾
- ❖ *Prévention et traitement des infections.* – En plus de l'altération des mécanismes de défense immunitaire induite par l'agression systémique au cours du SDRA, les moyens mis en œuvre pour la surveillance et le traitement (cathéters, intubation trachéale, sonde uri-

naire, etc.) exposent ces patients au risque d'infection. Une hygiène hospitalière rigoureuse et l'usage standardisé de procédures aseptiques sont d'une importance capitale dans la prévention des infections nosocomiales même s'il n'existe aucune donnée pour prouver qu'une réduction du taux de pneumonie nosocomiale diminue la mortalité.⁽²⁹⁰⁾ En dehors du cathéter de Swan-Ganz, le changement systématique des cathéters et des sondes trachéales en l'absence de signes infectieux locaux ou généraux n'est pas recommandé.^(470, 471) D'autre part, il n'existe à présent aucune donnée justifiant l'utilisation systématique d'une antibioprophylaxie ou d'une décontamination digestive ou trachéale sélective au cours du SDRA.^(472, 473) Toutefois, la position en décubitus dorsal est un facteur de risque pour une infection pulmonaire.⁽⁴⁷⁴⁾ En dehors de ses indications plus générales (patients neutropéniques, immunodéprimés, etc.), l'antibiothérapie empirique doit être limitée aux états de choc et aux SDRA d'origine infectieuse.⁽⁴¹⁷⁾ Des prélèvements bactériologiques exhaustifs doivent être réalisés sans délai et l'antibiothérapie sera adaptée selon leurs résultats. En effet, l'administration d'antibiotiques à large spectre en dehors d'une infection favorise l'émergence de mutants résistants responsables d'infections dont le taux de mortalité est élevé.⁽⁴⁷⁵⁾ Par contre, l'aspiration continue sous-glottique est une excellente stratégie prophylactique pour réduire l'incidence des pneumonies précoces induites par la respiration artificielle.⁽⁴⁷⁶⁾

- ❖ *L'apport nutritionnel* pour tous les patients se trouvant depuis quelques jours dans un état critique a montré un effet bénéfique sur le devenir de ces patients.^(477, 478) Il est essentiel de les nourrir en apportant les trois constituants principaux (hydrates de carbone, protéines et lipides) mais aussi vitamines et oligo-éléments.⁽²⁹⁰⁾ Cette alimentation sera débutée précocement et adaptée au cours des différents stades évolutifs du SDRA même si les besoins sont difficilement quantifiables pour chaque patient.⁽⁴⁷⁹⁾ Lorsque la possibilité existe, l'alimentation par voie entérale est préférable.⁽²⁹⁰⁾ Cette technique permet d'éviter l'atrophie villositaire et serait associée à une réduction de l'incidence des complications hémorragiques (ulcères de stress) et infectieuses (infections sur cathéter). Le maintien d'une nutrition entérale aurait également des effets bénéfiques sur la réponse immunitaire du patient.⁽⁴⁸⁰⁾

- ❖ Les informations concernant le support à fournir aux *organes autres que pulmonaires et cardio-vasculaires* sont plus succinctes. Il demeure important de conserver une perfusion viscérale satisfaisante et par exemple de poursuivre l'alimentation entérale pour conserver une bonne fonction digestive. Il est très difficile d'évaluer de façon précise et spécifique le degré d'atteinte du foie, cet organe si important au niveau métabolisme organique et élimination. L'utilisation d'agents dopaminergiques a été proposée pour améliorer le débit splanchnique et la fonction rénale.⁽⁴⁸¹⁾ Mais rien n'a été prouvé à cet effet et on peut également voir ici un intérêt de l'utilisation du NO inhalé de par ses effets extra pulmonaires (augmentation du débit sanguin rénal, de la filtration glomérulaire et de la diurèse).⁽⁸²⁾ Lorsqu'une insuffisance rénale aiguë survient malgré les mesures préventives (traitement d'un état de choc ou d'une hypovolémie, monitoring des drogues néphrotoxiques, etc.) le recours aux méthodes d'épuration extra-rénale peut être justifié. Les techniques d'hémofiltration sont généralement bien supportées par les patients en SDRA et pourraient aussi contribuer à une élimination des médiateurs inflammatoires,⁽⁴⁸²⁾ mais cette possibilité demande plus d'investigation avant d'être recommandée.⁽²⁹⁰⁾ D'autre part, la plupart des patients ventilés nécessitent une sédation et/ou une analgésie afin d'améliorer leur confort, d'augmenter la tolérance de la ventilation et de permettre le sommeil. Parfois, les patients peuvent avoir besoin d'une curarisation pour contrôler des modes ventilatoires contraignants (ratio I / E inversé, ventilation à haute fréquence, etc.). Toutefois l'emploi systématique des curares n'est pas recommandé car ils favorisent l'atrophie des muscles respiratoires et sont associés à la survenue de neuropathies acquises en réanimation.⁽⁴⁸³⁾ Finalement, les changements de position facilitent le nettoyage bronchique, les échanges gazeux et minimisent les risques d'escarres.⁽⁴⁸⁴⁾

9.4.2.b Modulation de la réponse de défense de l'hôte.

Ce traitement pharmacologique vise à limiter l'action directe des nombreux médiateurs impliqués dans le SDRA, leurs effets en cascade et leurs interactions. Cependant l'absence de spécificité de ces médiateurs pour le SDRA, leur abondance, rend utopique l'idée d'un traitement pharmacologique spécifique et applicable précocement (si ce n'est d'un agent à multiplicité d'action tel que le NO inhalé ou la pentoxifylline). De nombreux traite-

ments ont été proposés, dirigés contre tel ou tel groupe de médiateurs, mais aucun n'a apporté d'effets clairement positifs malgré des résultats prometteurs chez l'animal.^(290, 311, 417, 418)

9.4.2.b.α *Thérapeutiques pharmacologiques « conventionnelles ».*

Les facteurs confondants dans l'application clinique d'inhibiteurs de la réponse inflammatoire sont d'une part le développement potentiel d'un phénomène de tolérance à la lésion induite par les médiateurs cellulaires et humoraux de l'inflammation et d'autre part l'émergence d'un nombre croissant d'agents susceptibles de réduire l'inflammation qui pourrait entraîner une interférence telle avec le système immunitaire qu'elle déboucherait sur un SRAC particulièrement néfaste vis-à-vis du contrôle du processus, de l'infection par exemple. Ceci complique donc l'estimation des effets des traitements appliqués. Le Tableau IX résume toutes les thérapeutiques anti-inflammatoires qui ont été testées à ce jour dans le SDRA.

9.4.2.b.β *Thérapeutiques pharmacologiques d'avenir.*

De très nombreux efforts ont été consentis depuis trente ans dans la thérapie du SDRA, particulièrement au niveau des stratégies ventilatoires et du traitement de support, pour aboutir somme toute, à une mince diminution de la mortalité. C'est la raison pour laquelle certains auteurs considèrent que seule une intervention relevant du génie génétique serait à même d'apporter des bénéfices considérables.⁽⁵³⁹⁾ Il y a déjà eu des succès de manipulation génétique sur les animaux qui sont cliniquement applicables à l'Homme. Des exemples de *thérapie génique* incluent l'amplification ou la répression transitoire de gènes codant pour des protéines de défense (superoxyde dismutase, catalase, antitrypsine- α_1 , etc.) ou pour la synthèse des médiateurs inflammatoires (prostaglandine G / H synthase, synthèse de cytokines, etc.).^(539, 540) La transfection de ces gènes à l'Homme en est d'ailleurs à ces premiers pas d'investigation.⁽²⁹⁰⁾

Récemment il a été suggéré qu'en plus de la réponse pro-inflammatoire (caractérisée cliniquement comme le SRIS), les patients en sepsis (ou en SDRA) pouvaient aussi évoluer vers une phase anti-inflammatoire (le SRAC) ainsi que parfois vers une réponse mixte présentant à la fois des composantes pro- et anti-inflammatoires (le syndrome de réponse mixte antagoniste).⁽⁵⁴¹⁾ Le SRAC est associé au phénomène « d'immunoparalysie » caracté-

Tableau IX : Traitement pharmacologique anti-inflammatoire du SDRA.

Traitement	Efficacité sur la survie	Autres intérêts & avenues possibles
<p>Immunothérapie anticorps monoclonaux anti-endotoxine anticorps anti-cytokines</p> <ul style="list-style-type: none"> - TNF-α* anti-récepteurs aux cytokines - IL-1ra anti-récepteurs d'adhésion 	<p>Non⁽⁴⁸⁵⁻⁴⁸⁷⁾</p> <ul style="list-style-type: none"> - Oui⁽⁴⁸⁸⁻⁴⁹⁰⁾ / Non^{(491, 492) †} - Non^{(493) ‡ (494) †} <i>non évaluée</i> 	<p>Neutralisation de l'endotoxine au niveau du lipide x, de la protéine augmentant la perméabilité bactérienne, des anticorps polyclonaux de Mouton.⁽²⁹⁶⁾</p> <ul style="list-style-type: none"> - - - - <p>Des anticorps monoclonaux humanisés ont été utilisés avec succès sur des modèles animaux et sont évalués maintenant chez l'Homme.</p>
<p>Antioxydants[‡] stimulants du glutathion</p> <ul style="list-style-type: none"> - N-acétyl-L-cystéine - oxothiazolidine trappeurs de radicaux libres dérivés de l'O₂ - vitamine E 	<ul style="list-style-type: none"> - Non⁽⁴⁹⁵⁻⁴⁹⁷⁾ <i>non évaluée</i> - Oui^{(498) §} 	<ul style="list-style-type: none"> - <p>A amélioré la fonction cardio-pulmonaire⁽⁴⁹⁹⁾ et diminué la durée de la LPA,⁽⁴⁹⁷⁾ l'oxothiazolidine est en évaluation phase III.</p>
<p>Corticostéroïdes[€] traitement précoce</p>	<p>Non^(407, 500-502)</p>	<p>Oui dans les SDRA avec hyperéosinophilie marquée sur l'hémogramme et le LBA,^(508, 509) embolie graisseuse,^(510, 511) pneumonie à <i>Pneumocystis carinii</i>,⁽⁵¹²⁾</p> <p>Inhibition de la fibro-prolifération ; baisse de toutes les cytokines pro-inflammatoires mesurées,⁽²⁹²⁾ étude multicentrique en cours.</p>
<p>Traitement tardif</p>	<p>Oui^(292, 503-507)</p>	
<p>Inhibiteurs de cyclo-oxygénase[£]</p> <ul style="list-style-type: none"> ibuprofène indométhacine 	<p>Non^{(513, 514) †}</p> <p><i>non évaluée</i></p>	<p>Diminue la production d'eicosanoïdes ;^(513, 514) une étude multicentrique en double aveugle est en cours.</p> <p>Oui sur modèle expérimental.⁽⁵¹⁵⁾</p>

	Non ⁽⁵¹¹⁾	Effet préventif sur le SDRA ^(516, 517)
kétoconazole	Non ⁽⁵¹¹⁾	
Inhibiteurs du <i>platelet-activating factor</i> et antagonistes de ses récepteurs	Non ^{(518) †}	
Inhibiteurs de la bradykinine délitibant	Non ⁽⁵¹⁹⁾	Une tendance à l'amélioration a été trouvée lors de SRIS et de sepsis. ⁽⁵¹⁹⁾
Vasodilatateurs pentoxifylline	<i>non évaluée</i>	Cet inhibiteur de PDE présente une multiplicité d'action (vasodilatateur, anti-radicalaire, anti-cytokines, anti-agrégant plaquettaire, etc.) ; la lisophylline est en phase clinique II / III d'évaluation.
- médiateurs lipidiques	-	-
- PGE ₁ (Alprostadil [®])	Oui ⁽⁵²⁰⁾ puis Non ⁽⁵²¹⁾	Une étude multicentrique est en cours avec de la PGE ₁ liposomale.
- PGE ₂ liposomale	Non ⁽⁵²²⁾	- Effets prometteurs en conditions expérimentales (<i>cf.</i> paragraphe 8.2). ^(199, 231-236)
- PGI ₂ inhalée	<i>non évaluée</i>	Tendance à améliorer la survie avec la dose de 5 ppm ⁽⁵¹⁰⁾ évaluée maintenant en phase III
- NO inhalé ¹	Non ^(288, 522-524)	
Vasoconstricteurs	<i>non évaluée</i>	Augmente la VPH. ⁽²⁴⁴⁻²⁴⁶⁾ synergisme avec le NO inhalé. ^(31, 247, 248)
- almitrine	<i>non évaluée</i>	-
- PGF _{2α}	<i>non évaluée</i>	Augmente la VPH. ⁽²⁴¹⁻²⁴³⁾ pas de synergisme avec le NO inhalé. ⁽¹⁰⁹⁾
Antiprotéases	<i>non évaluée</i>	Efficaces sur modèle animal. ⁽⁵²⁵⁾
Surfactant exogène	Non ⁽⁵⁰⁴⁾	Incapacité à délivrer efficacement le surfactant en aérosol ⁽⁵⁰⁴⁾ (seuls 5% atteignent les alvéoles) ⁽⁴¹⁸⁾
surfactant synthétique en aérosol	Oui ^{(526-528) □}	
surfactant naturel en instillation		

SDRA= syndrome de détresse respiratoire aiguë ; TNF- α = *tumor necrosis factor- α* ; IL-1ra= antagoniste du récepteur de l'interleukine-1 ; LBA= lavage broncho-alvéolaire ; SRIS= syndrome de réponse inflammatoire systémique ; PGE₁= prostaglandine E₁ ; PGE₂= prostaglandine E₂ ; PGI₂= prostacycline ; NO= monoxyde d'azote ; ppm= parties par million ; VPH= vasoconstriction pulmonaire hypoxique.

* L'inhibition du TNF- α est également possible à l'aide de protéines de fusion qui ont permis une baisse de 36% de la mortalité à 28 jours dans un essai clinique sur le sepsis sévère ;⁽⁵²⁹⁾ La disparité des résultats obtenus vis-à-vis du TNF- α suggère que pour être efficace, il faut choisir le bon inhibiteur, la bonne dose, le bon sous-groupe de patients à traiter et surtout, la bonne fenêtre de temps où l'administrer.⁽⁵³⁰⁾

† L'efficacité a été évaluée sur des modèles de sepsis, pas de SDRA.

‡ L'analyse de sous-groupes de patients doit être réalisée avant de conclure définitivement ; une analyse rétrospective des cas plus sévères aurait montré une réduction significative de la mortalité.⁽⁴¹⁸⁾

‡ On peut envisager l'apport d'enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase et/ou la catalase qui se sont révélées très efficaces dans des modèles animaux.^(418, 531, 532) Aucune étude clinique n'a été élaborée à date.

§ Ce premier essai réussi n'a pas été suivi d'études similaires.

¶ Les résultats bénéfiques d'une étude randomisée récente des corticostéroïdes lors de choc septique⁽⁵³³⁾ ont conduit à une révision⁽⁵³⁴⁾ des études antérieures.^(407, 500-502) Une activité excessive des cytokines conduit à une résistance des organes cibles pour les corticostéroïdes par interaction avec les récepteurs au cortisol.⁽⁵³⁵⁾ Un traitement prolongé aux corticostéroïdes est dès lors nécessaire pour compenser adéquatement cette déficience des organes cibles, traitement prolongé qui induit une baisse des taux circulants de cytokines pro-inflammatoires⁽²⁹²⁾ et une augmentation des cytokines anti-inflammatoires (IL-4 et IL-10).⁽⁵³⁶⁾ Le traitement aux corticostéroïdes aurait donc été trop bref⁽⁵⁰¹⁾ comme le prouve son arrêt prématuré^(503, 504) qui entraîne une détérioration de l'état qui est compensée par une reprise du traitement. Des études ultérieures sont donc nécessaires prenant en compte la dose et la durée du traitement ainsi que le moment de son initiation.⁽⁵³⁴⁾

‡ Des inhibiteurs de la lipo-oxygénase⁽⁵³⁷⁾ ou des compétiteurs des récepteurs à leucotriènes⁽⁵³⁸⁾ ont été efficaces sur des modèles animaux mais n'ont pas fait l'objet à ce jour d'études cliniques.

¶ La place du NO inhalé dans le SDRA sera détaillé dans le paragraphe 9.5

¶ Le surfactant naturel a seulement été testé en conditions expérimentales sur l'animal, le nouveau-né, ou une cohorte de patients souffrant de SDRA. Aucune étude multicentrique randomisée n'a été élaborée à ce jour.

risé, entre autre, par une réduction de l'expression induite par les cytokines d'un marqueur de surface cellulaire sur les monocytes, le complexe de classe II d'histocompatibilité majeure (MHC) ou molécule *human leukocyte antigen D-related* (HLA-DR⁺). Il a été remarqué une association entre le dysfonctionnement des monocytes sur l'expression du HLA-DR⁺ et l'issue clinique de patients receveurs de transplant,⁽⁵⁴²⁾ chirurgicaux⁽⁵⁴³⁻⁵⁴⁵⁾ ou récipiendaires d'une assistance bi-ventriculaire⁽⁵⁴⁶⁾ développant un sepsis. Dans cette dernière étude,⁽⁵⁴⁶⁾ sept des neuf patients morts de SDMO septique présentaient des niveaux extrêmement diminués d'HLA-DR⁺ monocyttaire (< 30%) alors que les survivants avaient des niveaux d'expression antigénique normaux (> 80%). Chez les patients septiques, il a été rapporté que la persistance de l'inactivation monocyttaire pour plus de deux jours conduisait à une mortalité de 58%, et pour plus de cinq jours à une mortalité de 88%.⁽⁵⁴⁷⁾

Le SRAC, qui peut durer plusieurs jours, est aussi associé à une production réduite de cytokines pro-inflammatoires (principalement TNF- α , IL-1, IL-6 et IL-8) telle qu'observée lors d'immunodépression induite par choc hémorragique⁽⁵⁴⁸⁾ ou septique⁽⁵⁴⁹⁾ avec là encore une dissociation entre les morts et les survivants.⁽⁵⁴⁹⁾ On observe aussi une altération profonde de la fonction lymphocytaire avec une régulation à la baisse des lymphocytes *T-helper* de phénotype Th₁^(550, 551) associés à l'expression HLA-DR⁺ et à la production de ces cytokines. On peut suspecter que cette perte d'expression HLA-DR⁺ est le résultat d'un déséquilibre entre les facteurs stimulants {tels que l'interféron- γ (INF- γ)} et inhibants (phagocytes, médiateurs de la RDH). Sur ce dernier point, les agents immunosuppresseurs endogènes les plus visés sont les IL-10 et IL-4 et le *transforming growth factor- β* (TGF- β). Par exemple, les monocytes stimulés par le LPS produisent de l'IL-10 relativement tard dans la cascade pro-inflammatoire ; la production excessive de TNF- α et de PGs induit une surexpression d'IL-10 au niveau de l'ARN messenger et protéique.⁽⁵⁵²⁾ Les mécanismes d'inactivation monocyttaire de l'IL-10,⁽⁵⁵³⁾ de l'IL-4,⁽⁵⁵⁴⁾ du TGF- β ⁽⁵⁵⁵⁾ seuls ou en synergie⁽⁵⁵⁶⁾ commencent à être explorés. Étrangement, le dysfonctionnement monocyttaire observé lors de SRAC correspond aux altérations fonctionnelles des macrophages chez les patients en proie à une infection intracellulaire⁽⁵⁵⁷⁾ avec une diminution de la transcription MHC, de la présentation des antigènes, de la production de cytokines pro-inflammatoires (e.g. IL-1), de l'expression de facteurs régulateurs de transcription (e.g. *c-fos*), de l'activité du métabolisme

oxydatif, de la phagocytose et de l'activité microbicide, couplée à une augmentation de la production de molécules immunosuppressives (e.g. PGE₂, TGF-β, IL-10) qui auto-entretiennent le phénomène d'immunoparalysie. Étant donnée la demi-vie courte des cytokines pro-inflammatoires, il a été proposé de suivre l'expression du HLA-DR⁺ comme marqueur du SRAC.⁽⁵⁵⁸⁾

Considérant l'évolution biphasique de ces syndromes, il paraît concevable que la thérapie anti-inflammatoire (e.g. anti-TNF-α, IL-1ra, IL-10) puisse être efficace lors de la phase initiale hyperinflammatoire, alors que la suppression de facteurs inhibiteurs (e.g. par plasmaphérèse ou hémofiltration)⁽⁵⁵⁹⁾ ou l'administration de cytokines excitatrices de monocytes {*granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF), INF-γ} serait à même de contrer l'immunoparalysie lors des phases plus avancées de la maladie.^(560, 561) En effet, les monocytes de patients septiques avec une faible expression de HLA-DR⁺ ont une capacité diminuée à libérer des cytokines en réponse à une stimulation endotoxinique,^(544, 547, 549) il paraît donc douteux qu'un anticorps monoclonal dirigé contre TNF-α ou un antagoniste du récepteur à IL-1 puisse améliorer la survie de patients avec une expression diminuée d'HLA-DR⁺.

- ❖ La suppression de facteurs inhibiteurs a été utilisée avec succès sur des patients septiques avec péritonite, pancréatite, etc., confirmés immunoparalysés par le suivi d'expression d'HLA-DR⁺^(544, 545) et dont la survie a été augmentée significativement (48% *vs.* 15%) par la plasmaphérèse.⁽⁵⁴⁶⁾
- ❖ Dans l'*approche pro-inflammatoire*, on peut aussi chercher, en amplifiant la RDH, à prévenir le développement de la LPA / SDRA. Le mécanisme suggéré est qu'en réduisant ou en contenant l'infection, on prévient le développement d'une réponse inflammatoire plus généralisée qui serait à même de léser le poumon. Des études de traitement par le GM-CSF ont démontré des résultats favorables, diminuant la morbidité et la mortalité de toute une variété de modèles infectieux sur des hôtes non neutropéniques.⁽⁵⁶²⁾ Utilisé en clinique pour les cas de leucémies ou autres cancers neutropéniques,⁽⁵⁶³⁾ le GM-CSF a fait l'objet de deux essais cliniques supportant une efficacité relative et sur-

tout l'absence d'effets secondaires en présence d'infections sérieuses.^(564, 565) Dans une étude récente, sur une population très ciblée de patients présentant une hémorragie ou un accident cérébral traumatique aigu, le GM-CSF a encore fait la preuve de son innocuité, il a diminué le risque de bactériémie primaire mais n'a eu aucune incidence sur la mortalité, la durée de séjour ou les autres infections nosocomiales.⁽⁵⁶⁶⁾ Comme des données précliniques et cliniques supportent qu'il existe à la fois des risques et des bénéfices associés à la modulation de l'inflammation lors d'infection,⁽⁵⁶⁷⁾ ceci a eu pour effet de renouveler les craintes de la communauté⁽⁵⁶⁸⁾ et d'exiger, à juste titre, une poursuite des investigations cliniques contrôlées et randomisées dans ce domaine.

- ❖ Une autre approche pro-inflammatoire est de re-stimuler les composants actifs de la RDH sur des patients visiblement en phase de SRAC. L'INF- γ est la cytokine identifiée à date avec l'activité antimicrobienne la plus élevée. Elle est sécrétée par les lymphocytes T et est reconnue pour activer les macrophages mais aussi les autres phagocytes (monocytes et PMNs circulants) et les cellules non professionnelles de défense de l'hôte (fibroblastes, cellules endothéliales et parenchymateuses) pour exercer une activité antimicrobienne exacerbée. L'INF- γ déprime la production monocyttaire d'IL-10⁽⁵⁶⁹⁾ et la libération de PGE₂.⁽⁵⁷⁰⁾ Il induit aussi la production monocyttaire de TNF- α ⁽⁵⁷¹⁾ et d'IL-1 β .⁽⁵⁷⁰⁾ Particulièrement, Döcke et coll.⁽⁵⁷²⁾ ont observé que la stimulation par l'INF- γ entraîne une hausse significative des niveaux de TNF- α produit par des monocytes désactivés expérimentalement mais pas au niveau de celui produit par les cellules saines. Par ailleurs, les mêmes auteurs ont observé que l'INF- γ restaure l'expression HLA-DR⁺ sur des patients septiques immunoparalysés et la sécrétion de TNF- α stimulée par le LPS *in vitro* des monocytes de ces mêmes patients.⁽⁵⁷²⁾ De plus, l'INF- γ est capable de reconstituer l'immunité cellulaire déprimée en inhibant l'activité des lymphocytes Th₂,⁽⁵⁷³⁾ surexprimée dans ces conditions par rapport à celle des Th₁.⁽⁵⁵⁰⁾ Finalement, il stimule sa propre expression génique au niveau des lymphocytes.⁽⁵⁷⁴⁾ Dès lors, l'INF- γ a été testé en clinique. Il peut engendrer de la fièvre et un syndrome de type grippal mais il est généralement bien toléré. Il peut être administré par toute voie parentérale y compris en aérosol. Il a été utilisé avec succès en prophylaxie (maladie granulomateuse chronique,⁽⁵⁷⁵⁾ trauma^(576, 577)), où l'INF- γ a prévenu l'apparition d'infec-

tions secondaires sévères même si de nombreux biais méthodologiques n'ont pas permis d'asseoir de façon plus évidente les bénéfices de cette thérapie,⁽⁵⁷⁸⁾ et en traitement additif aux antibiotiques conventionnels pour augmenter la réponse et/ou réduire la durée du traitement (leishmaniose disséminée, infections mycobactériennes atypiques). Par ailleurs, l'INF- γ a restauré le niveau d'expression d'HLA-DR⁺ sur les monocytes sanguins de patients septiques :^(558, 572) sur les dix patients immunoparalysés (HLA-DR⁺ < 30%), huit ont montré une hausse de l'expression HLA-DR⁺ après une journée de traitement à l'INF- γ , les deux autres après deux à trois jours. L'administration sous-cutanée d'INF- γ fut poursuivie jusqu'à ce que la proportion de monocytes HLA-DR⁺ soit stable à plus de 50% pour au moins trois jours. Six patients survécurent, deux sont morts avec réapparition du sepsis après arrêt du traitement à l'INF- γ et les deux derniers sont morts de l'évolution cancéreuse de leur pathologie primaire sans présence évidente de sepsis.

Cette approche thérapeutique demande confirmation. Des études cliniques randomisées avec groupe contrôle sont en cours pour évaluer le rapport bénéfice / coût de la plasmaphérèse ou de l'hémodilution chez les patients en sepsis et/ou SDRA. Ce même genre d'étude est nécessaire pour la thérapie pro-inflammatoire (GM-CSF, INF- γ) car plusieurs zones d'ombre persistent : la thérapie par INF- γ est probablement inutile voire néfaste si administrée lors de la réponse pro-inflammatoire (SRIS) ; il est également possible, comme suggéré par Bone,⁽⁵⁴¹⁾ que certains patients aient une réponse mixte avec des composantes pro- et anti-inflammatoires. Il est difficile de prédire quel effet un agent tel que l'INF- γ pourrait produire dans ces conditions.

9.5 Monoxyde d'azote inhalé et syndrome de détresse respiratoire aiguë.

En écho à la première publication des effets bénéfiques potentiels du NO inhalé dans le traitement du SDRA,⁽⁵⁷⁹⁾ Sahebjami⁽⁵⁸⁰⁾ soulignait cinq mois plus tard dans une lettre à l'éditeur du *New England Journal of Medicine* que les hypothèses des auteurs⁽⁵⁷⁹⁾ sont que « *inhalation of nitric oxide causes selective vasodilation of the pulmonary vascular bed in the ventilated lung regions, improving oxygenation and cardiac performance and reducing the accumulation of extravascular lung water* ». Comme la mortalité du SDRA restait désespérément élevée malgré l'introduction

de techniques ventilatoires de plus en plus sophistiquées, la simplicité de ce nouvel agent thérapeutique gazeux et l'enthousiasme généré par les premiers résultats^(120,122, 247, 248, 263, 579, 581-584) prouvant la vasodilatation sélective pulmonaire à l'origine d'une baisse de l'hypertension pulmonaire (cf. paragraphe 8.1.1.a), d'une amélioration de l'oxygénation (cf. paragraphe 8.1.1.b) et de la fonction myocardique droite^(585, 586) et d'une réduction de l'œdème alvéolaire⁽⁵⁸⁷⁻⁵⁸⁹⁾ sont autant de raisons qui expliquent l'utilisation soudaine et universelle du NO inhalé dans le traitement de la LPA / SDRA. Certes, la thérapie demeurait expérimentale, n'ayant pas souscrit aux exigences d'innocuité (Phase I) et d'efficacité (Phases II / III) pour être reconnue par les autorités compétentes ; mais certains pays, comme la France, n'hésitaient pas à considérer cette éventualité. D'autres découvertes allaient conforter cette prise de position : le NO inhalé viendrait remplacer une source endogène de NO située au niveau des voies aériennes supérieures et auto-inhalée à chaque inspiration (cf. article de revue, page 71) mais court-circuitée par l'intubation endotrachéale ou la trachéotomie ; le NO inhalé présente des effets anti-vasotrophique^(183, 590) et extra pulmonaires (cf. paragraphe 8.1.3) particulièrement sur les reins^(82, 198) et les cellules circulantes sanguines^(180, 192) qui expliquent son activité anti-inflammatoire propices à le rendre très efficace dans le SDRA.

Toutefois Sahebji soulevait déjà en 1993 :⁽⁵⁸⁰⁾ « *the hemodynamic and oxygen-transport of ARDS result from pathophysiologic processes in the "involved" regions of the lung. How could an agent that "selectively" affects only the "uninvolved" regions be expected to have any substantial influence on the outcome of ARDS ?* » Les études de séries de cas subséquentes,^(31, 232, 233, 249, 278-282, 586-589, 591-605) les analyses rétrospectives^(287, 606-608) et surtout les études prospectives randomisées, avec groupe contrôle (Phases II / III), multicentriques⁽⁵²²⁻⁵²⁴⁾ ou pas,^(288, 609) en aveugle^(522, 524) ou pas,^(288, 523, 609) par une connaissance de plus en plus approfondie de la thérapie par NO en inhalation, ont permis de répondre (parfois seulement de façon partielle) aux questions concernant ses éventuels effets secondaires, le choix de la dose optimale et du moment de l'intervention, le phénomène des non-répondeurs et surtout son impact sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité du SDRA, ou : Est-ce que les doutes de Sahebji allaient être infirmés par la multiplicité d'action du NO inhalé ou confirmés par la complexité de la pathologie ?

9.5.1 Effets secondaires potentiels du NO inhalé dans le SDRA.

Nous avons détaillé dans l'article de revue (pages 71, 72) la toxicité potentielle du NO inhalé et, à la lumière des nombreux résultats obtenus depuis, nous sommes à même d'apporter certaines précisions par rapport au texte précédemment présenté.

- ❖ *Toxicité aiguë du NO inhalé : Production de NO₂ et de méthémoglobine.* – Avec l'évolution technologique dans le domaine du NO inhalé, la fiabilité et la précision des nouveaux systèmes d'administration et de monitoring des concentrations de NO / NO₂, la disponibilité de piègeurs spécifiques au NO₂ et surtout l'utilisation de doses de NO efficaces dans le SDRA relativement basses (en général < 10 ppm)^(14, 23, 30, 288, 606, 608) font que les risques de toxicité aiguë du NO inhalé sont mineurs. Le taux de NO₂ produit est le plus souvent inférieur à 1 ppm,^(288, 606-609) même si les systèmes d'administration diffèrent selon les études et on rapporte seulement des niveaux élevés lorsque la fraction inspirée de NO (FiNO) est haute : Manktelow et coll.⁽⁶⁰⁸⁾ et Dellinger et coll.⁽⁵²⁴⁾ ont observé, respectivement, 4 cas de FiNO₂ comprise entre 2 et 3 ppm pour 92 traitements apparaissant avec une FiNO de 20 ppm et une FiO₂ de 0,95 ; et 3 cas de FiNO₂ supérieure à 3 ppm pour 177 patients, tous les trois avec une FiNO égale à 80 ppm. Les niveaux normaux de méthémoglobine sanguine sont inférieurs à 2% et seuls des niveaux supérieurs à 5% requièrent un traitement. Les milliers de journées de traitement au NO inhalé rapportées au cours de ces études,^(288, 524, 606-609) n'indiquent aucune apparition de signes toxiques de méthémoglobinémie élevée lorsque la dose de NO est inférieure à 40 ppm. Tel qu'indiqué dans l'article de revue (page 72), il faut simplement porter attention aux éventuels patients présentant un système réducteur enzymatique immature (nouveau-nés, enfants) ou déficient (Amérindiens, Méditerranéens).
- ❖ *Toxicité aiguë : Effets pro- et anti-inflammatoires.* – S'il est maintenant recommandé d'éviter l'administration intratrachéale de NO à cause des dommages inflammatoires engendrés sur la muqueuse (cf. article de revue, page 71), il est à l'heure actuelle impossible de quantifier l'importance prise par le NO inhalé aux lésions dues à une RDH exacerbée. En effet, le NO lui-même a une certaine activité pro-inflammatoire et mutagène, mais surtout ONOO[•] dont la production est facilitée par les niveaux élevés de NO et de

radicaux libres dérivés de l'O₂ libérés au cours du SDRA est reconnu comme un agent délétère important du stress oxydatif. Toutefois, on peut aussi penser que les concentrations de NO inhalé infinitésimales par rapport à celles produites par les NO synthases inductibles (NOS2) lors d'inflammation⁽³⁶⁷⁾ et de sepsis⁽⁶¹⁰⁾ ne contribueront que de façon bien modeste à la cytotoxicité des dérivés nitrés. Par ailleurs, la manipulation de la voie NO / GMPc⁽⁶¹¹⁾ dans les états inflammatoires s'avère très délicate. La controverse issue, d'un côté, de l'enthousiasme de certains résultats expérimentaux⁽⁶¹²⁻⁶¹⁶⁾ et, de l'autre, de la déception des études subséquentes sur les inhibiteurs spécifiques⁽⁶¹⁷⁾ ou pas (Juan GUERRERO, Directeur médical section Amérique du Nord de l'étude internationale, randomisée, contrôlée, en double aveugle d'infusion intraveineuse de L-NMMA dans le choc septique, *Glaxo-Wellcome*, lettre aux participants de l'étude, mars 1998) de la NOS2 stimulée dans ces conditions, prouve que rien n'est établi face à l'utilité d'une telle inhibition. Dans ce sens, l'association inhibiteur de NOS et NO inhalé peut s'avérer intéressante et bénéfique.⁽⁶¹⁸⁾ À l'inverse, le NO inhalé pourrait très bien aggraver le SRAC présent dans le SDRA établi. Eichacker rappelait dans un récent éditorial⁽⁶¹⁹⁾ que des agents antagonistes des interactions leucocytes – endothélium pulmonaires pouvaient augmenter les taux de mortalité relevés dans certains modèles expérimentaux d'infection pulmonaire.⁽⁶²⁰⁾ Cela peut également être vrai pour le NO inhalé laissant ainsi l'organisme, avec une fonction diminuée des phagocytes,⁽¹⁹⁰⁾ plus sujet aux infections.

- ❖ *Toxicité subaiguë : Dysfonctionnement des systèmes plaquettaire et rénal.* – En raison des effets extra pulmonaires sur les plaquettes, des troubles de la coagulation sur les patients atteints de SDRA et traités par NO inhalé ont été rencontrés, mais de manière isolée seulement sur un patient recevant une dose élevée de 40 ppm de NO,⁽⁵²⁴⁾ ou sur deux patients soumis à un traitement concomitant d'anticoagulant par voie intraveineuse (héparine et urokinase) dont l'un développa une hémorragie cérébrale.⁽⁶⁰⁹⁾ Curieusement, de nombreux patients recevant de l'héparine par voie sous-cutanée et du NO en inhalation n'ont montré aucun risque de saignement accru.⁽⁶⁰⁹⁾ Tels que précisés précédemment (*cf.* paragraphe 8.1.3.a), les risques de troubles de la fonction plaquettaire et d'hémorragie cérébrale semblent limités à des situations précises chez les personnes re-

cevant des quantités importantes d'autres anticoagulants ou chez les nouveau-nés. Pour ce qui est des effets rénaux, ceux que nous avons décelés lors de nos études animales^(82, 198) laissaient présager d'un bénéfice substantiel pour les patients souffrant de SDRA et traités au NO inhalé. Or, l'étude multicentrique Européenne de phase III, subventionnée par la compagnie AGA A.B., signala une nécessité augmentée de dialyse rénale chez le groupe traité au NO inhalé (38%) par rapport au groupe contrôle recevant les traitements conventionnels (16%).⁽⁵²³⁾ Il s'avéra par la suite que cette alarme n'en était pas une et que cette différence observée s'effaçait devant les manques et biais de leur analyse statistique. D'ailleurs, aucune autre étude ne rapporta de troubles de la fonction rénale engendrés par le NO inhalé.

- ❖ *Toxicité chronique : Dépendance au NO inhalé et difficulté de sevrage.* – Une rétroaction négative du NO exogène sur les NOS endogènes (par stimulation de la production d'O₂⁻ par la xanthine oxydase endothéliale et conséquemment d'ONOO⁽⁶²¹⁾) ou une augmentation de l'activité de la PDE-V⁽⁶²²⁾ serait à l'origine d'un phénomène de dépendance de certains patients souffrant de SDRA vis-à-vis du NO inhalé qui devient dès lors nécessaire au maintien des échanges gazeux et de la stabilité hémodynamique.⁽⁶²³⁾ Une traduction de ce phénomène est l'hypoxémie et l'hypertension pulmonaire « rebond » qui apparaissent suite à l'arrêt brutal du traitement par NO inhalé.^(120, 579, 583, 607, 608, 624, 625) Les conséquences sont un besoin absolu en un système de réserve en cas de bris du système principal d'administration sur un patient dépendant⁽⁶⁰⁷⁾ et la nécessité de suivre un protocole graduel de sevrage du traitement par NO inhalé.^(288, 608) La sévérité du rebond peut être minimisée en augmentant la FiO₂, en administrant des agents vaso-actifs par voie intraveineuse et surtout en évitant un arrêt brutal du traitement au NO inhalé.⁽⁶⁰⁸⁾ L'apparition de cette vasoconstriction pulmonaire aiguë est imprévisible et ses mécanismes imparfaitement connus. La réintroduction du NO en inhalation renverse le phénomène rebond. Il faut aussi noter que l'incidence de ce phénomène est faible : un cas pour 56 patients traités⁽⁶⁰⁷⁾ voire 6% des patients.⁽⁶⁰⁸⁾ En ce qui concerne notre institution, le suivi des règles précédemment énoncées, notamment par la détermination quotidienne d'une dose optimale de NO inhalé, nous permet un sevrage progressif et évite totalement l'apparition d'un phénomène rebond.⁽²⁸⁸⁾

9.5.2 Dose optimale de NO inhalé et moment de l'intervention.

Bien qu'il semble logique d'administrer la dose la plus basse qui induise le plus grand effet désiré, à savoir une augmentation de la PaO₂, la vasodilatation pulmonaire, qui serait elle maximale à des FiNO plus élevées (20 à 40 ppm),^(120, 583, 597) pourrait aussi constituer un but souhaitable et aussi important dans le temps afin de limiter l'œdème alvéolaire, le remaniement vasculaire pulmonaire et la défaillance du cœur droit.⁽⁶²⁶⁻⁶²⁸⁾ Lors de ces études,^(120, 583, 597) il avait été établi que l'effet du NO sur la PaO₂ des patients en SDRA était significatif à 0,1 ppm alors que son action sur la PAP se situait autour de 2 – 3 ppm. Il avait même été noté un effet plateau sur la PaO₂ à 10 ppm et que des FiNO supérieures pouvaient conduire à une baisse de l'oxygénation chez certains patients.⁽¹²⁰⁾ Par contre, l'effet sur la PAP augmentait avec la dose de NO et était maximum pour une FiNO égale à 100 ppm. Toutefois, d'autres auteurs^(31, 122, 596, 602) ont trouvé exactement la relation inverse : effet plateau à 0,1⁽⁵⁹⁶⁾ ou 4,5⁽⁶⁰²⁾ ppm pour la PAP et augmentation de la PaO₂ avec la FiNO. Quoi qu'il en soit, ces études^(31, 120, 122, 583, 596, 597, 602) ont toutes relevé qu'aux hautes FiNO, il y avait possibilité pour le NO d'aller vasodilater les territoires non-ventilés, *i.e.* un effet « *spillover* » par diffusion gazeuse (*cf.* paragraphe 8.1.1.b) ou intervention des formes de transport sanguines,⁽⁶⁰²⁾ d'où une aggravation du shunt intrapulmonaire par inhibition de la VPH sur ces régions.

La réalisation d'études de phase II est destinée à une évaluation de l'efficacité et du dosage d'une nouvelle molécule thérapeutique. La seule étude multicentrique réalisée à ce jour pour répondre à ces critères a montré qu'il n'y avait pas de différence entre les cinq groupes réunis (n = 120) de traitement par NO inhalé (FiNO = 1,25 ; 5 ; 20 ; 40 et 80 ppm) et le groupe placebo (n = 57) recevant du N₂ concernant la mortalité, le succès thérapeutique (patient vivant et sevré de ventilation mécanique) ou le nombre de jours vivants après avoir rencontré les critères d'oxygénation pour l'extubation.⁽⁵²⁴⁾ Toutefois, les patients recevant 5 ppm de NO inhalé (n = 34) ont montré une tendance à l'amélioration sur ces paramètres. Dans ce groupe, le pourcentage de succès thérapeutique à 28 jours (une analyse *post hoc*) fut plus élevé (62 *vs.* 44%) que dans le groupe placebo.⁽⁵²⁴⁾ Lors de notre étude pilote de phase III, nous fûmes les premiers, à notre connaissance, à réaliser une évaluation quotidienne de la dose optimale de NO sur l'oxygénation.⁽²⁸⁸⁾ Nous n'avons pas trouvé de diffé-

rence sur la mortalité entre les groupes contrôle et traité au NO inhalé, mais la dose moyenne (\pm erreur type) de NO fut de $5,6 \pm 1,8$ ppm pour une durée de $8,1 \pm 1,3$ jours de traitement ($n = 15$). Dans les études rétrospectives,^(606, 607) il est rapporté une FiNO moyenne autour de 10 ppm. Il ressort donc de ces résultats que la dose optimale de NO inhalé dans le SDRA se situe autour de 5 ppm. L'étude de phase III en cours aux États-Unis d'Amérique est limitée à l'utilisation de cette seule dose de 5 ppm et elle nous renseignera grandement sur la justesse de ce choix.

Une autre question fut posée par Swart et Smithies :⁽⁶²⁷⁾ Quand doit-on débiter le traitement ? Est-ce que le NO doit être utilisé précocement afin de réduire le volotraumatisme de la respiration artificielle ou doit-on attendre que le traitement conventionnel soit sans effet ? La réponse à cette question est délicate étant donné le manque d'information à ce sujet. Pourtant en connaissance du processus inflammatoire mis en jeu lors de SDRA et des effets pro- et anti-inflammatoires du NO inhalé, il semble souhaitable d'éviter l'administration de NO inhalé en plein cœur 1) du SRIS et 2) du SRAC tel que prouvé par l'absence d'effet marqué du NO inhalé seul dans le traitement du SDRA (*cf.* paragraphe 9.5.4). Il advient que l'utilité du NO inhalé (lors de SDRA, le NO inhalé, s'il ne modifie pas la mortalité, réduit les besoins en ECMO aussi bien chez l'enfant^(11, 12) que chez l'adulte^(629, 630)) dans ces situations doit être amplifiée par une manipulation adéquate du processus inflammatoire et que le traitement par NO inhalé doit débiter le plus tôt possible. Une autre hypothèse séduisante serait d'utiliser le NO inhalé en prophylaxie du syndrome LPA / SDRA.⁽⁶³⁰⁾ Aucun essai clinique à ce jour n'a été réalisé en ce sens mais les résultats expérimentaux sont prometteurs (*cf.* paragraphe 8.1.4). La seule controverse sur la nature des résultats obtenus avec le NO inhalé en prévention pourrait bien être liée à une variabilité inter-espèces, particulièrement le NO inhalé étant efficace chez le Porc^(215, 216) mais sans effet, voire délétère, chez le Lapin.^(217, 218) Étant données les similitudes physiologiques et pharmacologiques de l'Homme plus marquées avec le Porc⁽⁶⁰⁾ qu'avec le Lapin, il y a tout lieu de croire en un effet prophylactique bénéfique du NO inhalé chez l'Homme.

9.5.3 Non-répondeurs au NO inhalé

9.5.3.a Résumé.

Décrite pour la première fois par Ricou et Suter,⁽⁶³¹⁾ la non-réponse au NO inhalé supporte diverses définitions. La plus commune est une hausse de $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ inférieure à 20%,^(287, 288, 524, 584, 591-593, 595, 599, 601, 602, 608, 609, 628, 632) ou à 10%,^(605, 633) ou à 10 mmHg en valeur absolue^(233, 248, 606) par rapport à la valeur initiale. Certains auteurs ont préféré juger sur tout changement de $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$,^(596, 631) ou associent également la PAP dans leur évaluation.^(591, 595, 633)

Sur les vingt études recensant la non-réponse au NO inhalé dans le SDRA, le pourcentage de non-répondeurs est varié, de 0⁽⁵⁸⁴⁾ à 100⁽⁵⁹¹⁾%. Toutefois, si on regroupe toutes les études (n = 609) en considérant leurs propres critères de sélection de non-réponse, on aboutit à un taux de 37,6% de non-répondeurs qui se situe dans la fourchette de valeurs observées dans les études rétrospectives^(608, 628) et prospective⁽⁵²⁴⁾ avec la plus grande taille d'échantillon. En groupant les quinze études pour lesquelles il est possible de le calculer, le taux de mortalité des non-répondeurs (n = 146) est de 65,1%, nettement plus élevé que celui des répondeurs au NO inhalé (42,9% ; n = 207). Ceci semble conférer une valeur prédictive au niveau de réponse initiale au NO inhalé. Manktelow et coll.⁽⁶⁰⁸⁾ et nous-mêmes^(287, 288) avons déjà relevé cette tendance et l'étude récente de Michael et coll.⁽⁵²⁴⁾ confirme la valeur prédictive du score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$.^(286, 340) tous les patients (groupes contrôle et traité au NO inhalé) qui montrent une amélioration du score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ lors du premier jour, ont une plus grande tendance à renverser l'évolution du SDRA. Ce fut particulièrement vrai pour les patients du groupe NO inhalé.⁽⁵²⁴⁾ Dans ce sens, la réponse au NO inhalé peut donc être considérée comme un test de « réversibilité » utile pour une sélection future des patients.⁽⁶³⁰⁾

Les raisons de la non-réponse au NO inhalé ne sont pas parfaitement connues. Les caractéristiques cliniques initiales des répondeurs et des non-répondeurs sont le plus souvent identiques que ce soit au niveau des scores de gravité, des paramètres ventilatoires ou hémodynamiques.^(288, 601, 608) Toutefois, il se dégage que quatre facteurs pourraient avoir une

certaine influence sur le degré de réponse des patients souffrant de SDRA au NO inhalé : (1) le remaniement anatomique de la circulation pulmonaire ; (2) l'augmentation du flux sanguin pulmonaire responsable de l'hypertension artérielle pulmonaire ; (3) la réduction du volume pulmonaire accessible au gaz, et (4) la présence de choc septique. Les deux premiers facteurs ont déjà fait l'objet d'une présentation sommaire dans les paragraphes 8.1.1.a et 8.1.1.b et nous nous contenterons ici de quelques précisions à leur sujet.

Si le degré initial de résistances vasculaires pulmonaires est corrélé positivement au degré de vasoconstriction pulmonaire réversible par le NO inhalé,^(120, 249, 584, 608) il faut noter que cette relation correspond bien aux extrêmes de l'hypertension pulmonaire, alors que la majorité des patients en SDRA ont une PAP modérément élevée.⁽⁶²⁸⁾ Il s'en suit que certains patients souffrant de SDRA avec de hautes résistances pulmonaires initiales vont se révéler non-répondeurs au NO inhalé,⁽⁶⁰²⁾ la réponse au NO inhalé étant plus liée au type et à la concentration des agents vaso-actifs circulants et à l'importance relative des composantes fixées et fonctionnelles de l'hypertension pulmonaire. Les résultats obtenus par l'analyse rétrospective de Manktelow et coll.⁽⁶⁰⁸⁾ vont dans ce sens avec une réponse au NO inhalé plus faible pour les patients souffrant de LPA plus sévère et confirment les hypothèses précédemment énoncées que la pathophysiologie et la sévérité des lésions expliquent la non-réponse au NO inhalé.^(287, 592, 606) D'autres données récentes viennent corroborer ce principe : il a été montré que les répondeurs au NO inhalé présentaient un déficit de production endogène de NO qui engendrait une VPH prédominante (corrélée négativement avec la pression partielle veineuse en O₂)^(598, 634) et par là même des résistances vasculaires pulmonaires élevées.⁽⁶⁰⁵⁾ De plus, il a également été prouvé que le NO inhalé était plus efficace dans ses effets extra pulmonaires dans les situations de déficit en NO endogène,⁽¹⁹¹⁾ alors pourquoi pas pour ses effets pulmonaires ?

Bien que moins étudiée, il a aussi été démontrée qu'une dose élevée de NO inhalée (40 ppm) induisait chez les patients en SDRA présentant un débit cardiaque élevé avant l'introduction de la thérapie (> 10 L/min) une baisse de l'oxygénation.⁽⁵⁹⁴⁾ Le mécanisme responsable n'a pas été déterminé mais on peut supposer qu'un débit cardiaque élevé dilate passivement (augmentation des forces de friction endothéliales induisant une hausse de la

production endogène de NO) les vaisseaux pulmonaires qui deviennent ainsi moins sensibles au NO exogène.

Les travaux de Putensen et coll.^(111, 112) ont établi que l'inhalation de NO était plus efficace lors de recrutement alvéolaire, permettant ainsi au NO une atteinte alvéolaire plus aisée. Depuis, de nombreuses études ont retrouvé cet effet synergique du NO inhalé avec diverses stratégies ventilatoires.^(71, 92, 110, 249, 276-282) On pourrait aussi supposer lors de SDRA que les lésions inflammatoires perturbent activement la coordination alvéole-vaisseau (interface empêchant la diffusion gazeuse, inactivation de NO) ou que l'endothélium vasculaire ne soit plus réactionnel (remaniement de la paroi, insensibilité au NO).⁽⁶³⁵⁾ Nous verrons dans la section suivante que l'atteinte de la voie NO / GMPc est une cible préférentielle lors de sepsis susceptible d'expliquer la non-réponse au NO inhalé.

Le seul facteur prédictif de réponse positive au NO inhalé identifié à date lors de deux études rétrospectives^(608, 628) est l'absence de choc septique, le pourcentage de non-réponse étant de 67% en présence de choc septique *vs.* 35% sans. Cette observation confirme les résultats de Krafft et coll.⁽⁵⁹⁵⁾ d'un pourcentage élevé (60%) de non-répondeurs au sein d'un échantillon de 25 patients septiques. Dans son étude, les non-répondeurs se distinguaient des répondeurs par une défaillance au niveau de la réserve cardiaque et de la DO₂.⁽⁵⁹⁵⁾ Par ailleurs les courbes concentration-réponses des effets du NO inhalé sur la circulation pulmonaire et sur l'oxygénation artérielle sont modifiées lorsqu'un choc septique s'associe à l'insuffisance respiratoire aiguë.⁽⁶⁰²⁾ Alors que les effets du NO inhalé sur la PAP se réalisent à des doses légèrement augmentées pour les patients atteints de SDRA avec choc septique (10 ppm) par rapport aux non choqués (2 - 3 ppm), l'amélioration de la PaO₂ est d'une magnitude plus élevée chez le septique avec des doses également plus élevées (30 à 150 ppm).⁽⁶⁰²⁾ L'association d'une hypertension pulmonaire artérielle et d'un choc septique implique une atteinte de la VPH due à la libération massive de médiateurs vasodilatateurs par l'endothélium tels que les prostanoïdes et le NO endogène, engendrant un haut degré de shunt intrapulmonaire et d'hypoxémie. De plus, les catécholamines exogènes administrés au patient pour maintenir la PAS et des médiateurs circulants comme l'endothéline dont les taux sanguins ont été retrouvés très élevés au cours du SDRA,⁽³⁹⁰⁾

peuvent interférer avec la VPH. Il faudrait alors des concentrations plus élevées de NO inhalé pour relaxer les vaisseaux pulmonaires constrictés mais elles engendrent un vol sanguin plus important en rapport avec une perfusion des zones non-ventilées accrue par le choc septique.⁽⁶⁰²⁾ Une autre hypothèse envisageable est l'atteinte de la voie NO / GMPc secondaire au choc septique.^(591, 592)

Holzmann et coll.⁽⁶³⁶⁾ ont montré que la réponse vasodilatatrice au NO inhalé était défaillante dans un modèle de SDRA induit par LPS sur des poumons isolés de Rats et associée à une libération moindre de GMPc dans le liquide de perfusion. Ils montrèrent aussi que l'activité de la GCs n'était pas modifiée mais que cette non-réponse s'expliquait en partie par une activité augmentée (de 40%) de la PDE-GMPc dépendante. Par ailleurs, l'ajout de 8-bromoguanosine GMPc, analogue sensible à la PDE, a montré une réponse moindre avec les poumons traités au LPS qu'avec les poumons normaux, mais l'ajout de 8-para-chlorophénylthioguanosine GMPc, insensible à la PDE, n'a pas révélé de différence entre les deux groupes, confirmant ainsi cette possibilité d'hyperactivité de la PDE.⁽⁶³⁴⁾ Si l'activité de la PDE-V est augmentée dans le poumon humain en présence de sepsis, alors le NO inhalé serait moins efficace à augmenter les niveaux tissulaires de GMPc pour induire une vasodilatation significative. Cette hypothèse a été confirmée par l'effet synergique entre le NO inhalé et le zaprinast^(65, 72, 91) et l'étude de Fullerton et coll.⁽²²⁹⁾ où des patients en hypertension pulmonaire après un remplacement valvulaire mitral, qui étaient réfractaires au traitement par NO inhalé seul ou dipyridamole seul, se sont révélés répondeurs à l'association du stimulateur de production de GMPc et de l'inhibiteur de dégradation du GMPc. Ces travaux n'éliminent pas non plus la possibilité d'une inhibition par le choc septique de l'expression génétique de la GCs ou d'une interaction négative de l'activité des PKG.

Finalement, nous nous devons aussi de rappeler que les patients non-répondeurs auraient très bien pu être soumis à une exposition occulte au NO inhalé contaminant l'air comprimé de l'hôpital qui les rend dès lors insensibles à une nouvelle exposition au NO inhalé exogène (*cf.* paragraphe 4.3.3).⁽³⁹⁾

9.5.3.b Lettre à l'éditeur.

Parmi les techniques possibles afin d'augmenter la réponse au NO inhalé, il est possible de manipuler la voie NO / GMPc,^(65, 72, 91, 229) d'augmenter le recrutement alvéolaire,^(71, 92, 110, 249, 276-282) ou la VPH à l'aide de vasoconstricteurs comme l'almitrine.^(31, 247, 248) S'inscrivant dans cette ligne de pensée, l'étude de Doering et coll.⁽⁶⁰⁰⁾ concerne l'association du NO inhalé avec la phényléphrine intraveineuse dans le SDRA. Observant un effet synergique des deux traitements, les auteurs⁽⁶⁰⁰⁾ et un éditorialiste⁽⁶³⁷⁾ concluent qu'ils agissent par des voies différentes et que, la phényléphrine particulièrement, augmente la VPH. Malheureusement, cette interprétation ne coïncide ni avec les données hémodynamiques présentées,⁽⁶⁰⁰⁾ ni surtout avec notre expérience personnelle d'utilisation concomitante du NO inhalé et de la phényléphrine.⁽⁸²⁾

Phenylephrine and Inhaled Nitric Oxide

Eric Troncy, D.V.M.,* Gilbert Blaise, M.D.†

* *Ph.D.* student. † Anesthesiologist, Associate Professor

Address correspondence to:


Gilbert Blaise, M.D.

Anesthesia Laboratory, Department of Anesthesia

CHUM, Centre hospitalier de l'Université de Montréal - Notre-Dame Campus

1560 East Sherbrooke Street

Montréal (PQ) H2L 4M1 Canada

Tel: (514) 281-6000 ext 5397; Fax: (514) 896-4754; E-mail: 

Key words

Acute Respiratory Distress Syndrome, Drug Therapy; Outcome Assessment; Pulmonary Gas Exchange.

To the Editor:-Having read the study of Doering *et al.*¹ with a great interest, and because of our own experience of using phenylephrine (PhE) and inhaled nitric oxide (NO) in experimental conditions,² and inhaled NO in patients,³ we would like to moderate the conclusions of the authors¹ as well as of the accompanying editorial,⁴ and propose a different hypothesis.

In their introduction, Doering *et al.*¹ report that “Phenylephrine, an α -receptor agonist, has pulmonary and systemic vasoconstrictor effects”, referring to the review of Dawson.⁵ In this particular article,⁵ the pulmonary vasoconstriction in response to sympathetic stimulation concerns mainly the use of norepinephrine, epinephrine, and electrical stimulation (not PhE) in precise species, *i.e.* dog, cat, and rabbit. However, species differences have been reported in the noradrenergic innervation of the pulmonary artery and its branches.⁶ The sheep, guinea-pig, rabbit, feline and canine pulmonary arteries have a rich density of α -adrenergic receptors, whereas calf, rat and swine have a sparse distribution.⁷ As the pigs have a cardiopulmonary physiology, pharmacology and anatomy comparable in many respects to that of humans,⁸ we studied the mechanism of PhE-induced pulmonary hypertension in swine. During the experiment,² the pulmonary vascular resistance (PVR) did not change, in agreement with the heterogenous,⁹ sparse or non-existent⁶ α -adrenergic innervation of the swine pulmonary resistance vessels. In humans, controversy exists concerning the effects of α -adrenergic agonists on the pulmonary vascular bed.¹⁰ In intact man, if the pressor response to acute hypoxia arose from an increased PVR, the pressor response to norepinephrine infusion is translated primarily into “back pressure” from the left heart (*i.e.* without an increase in PVR).¹¹ Results were almost identical in patients with pulmonary hypertension.¹² Finally, it is interesting to note that humans and pigs present the same intermediate magnitude of vasoconstrictor response to acute hypoxia¹⁰ by the so-called phenomenon of hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV).¹³

PhE induced no change in heart rate, cardiac output (CO), PVR, and venous admixture (Q_{VA}/Q_T) in ARDS patients,¹ and experimental pigs.² We noted, particularly in the selected group of PhE-responders, an increase in pulmonary artery pressure (mPAP from 30 ± 2 to 32 ± 2 mmHg) as well as a statistically non-significant increase in pulmonary artery occlusion pressure by PhE (PAOP from 13 ± 1 to 16 ± 2 mmHg).¹ These results correlate well with the increases in mPAP, PAOP, left atrial (LAP) and central venous (CVP) pressures that we observed with PhE in normal pigs.² Here,¹ measurements of CVP were recorded but not shown. Because of these results, it seems difficult to call PhE “an intravenous pulmonary vasoconstrictor”⁴ and it would be better to consider the mechanism of PhE action not only as a potentialisation of HPV,^{1,4} but also as a reduced compliance of left ventricular filling induced by the increased systemic afterload, which is passively reflected back on the pulmonary vascular bed. This hypothesis, in relation with the high variability in the presence of α -adrenergic receptors on human pulmonary arteries, would bring an element of response to “the reasons why some but not all patients respond to PhE”.⁴ These latter have necessitated higher doses of PhE for the same level of increase in mean systemic arterial blood pressure (mABP) than the PhE-responders. Was this in relation with their sepsis status associated with high production of NO making them less sensitive to catecholamines? In our study with normal pigs,² PhE did not affect gas exchange parameters. In the study of Doering *et al.*¹ with ARDS patients, PhE increased oxygenation in some patients and showed an evident synergistic effect with inhaled NO in this parameter.

The authors¹ opted for a definition of NO-responders (increase >10 mmHg in Pa_{O_2}) which is not frequently found in the literature (4 times in 19 publications), as recently reviewed by our group.¹⁶ Taking a 10 mmHg increase in Pa_{O_2} as limit led to sequence the data in two equal (n=6) groups of PhE-responders and -nonresponders. However, it has to be noted that most of the authors

accept as a criterion for NO-responder an increase in hypoxia score ($\text{Pa}_{\text{O}_2}/\text{Fi}_{\text{O}_2}$) of more than 20%.^{3,14}

¹⁶ In this instance, the authors¹ would not obtain a rate of 11/12 and 6/12 for NO- and PhE-responders, but probably of 7/12 and 2/12, respectively, as estimated from Fig. 1.

Inhaled NO seemed acting on oxygenation by the classical steal phenomenon described in the literature for ARDS patients,¹⁴ for the PhE-nonresponders but not for the PhE-responders (no effect on mPAP, PVR, CO, PAOP, and $Q_{\text{VA}}/Q_{\text{T}}$). We observed that CO tended to increase in these patients, partially explaining the improved oxygenation as also observed with concomitant use of inhaled NO and permissive hypercapnia.¹⁷

The statistical analysis was confusing (with the use of two types of statistical analyses, *i.e.* parametric and nonparametric, for different variables) and the results obtained not homogenous (statistical significance observed for mABP with PhE alone but not for PhE+inhaled NO in Tables 2 and 3, even if the differences and variabilities were really similar in both conditions). We agree with the authors' prudence about the limited power of their statistical analysis.

Even if the authors¹ were prudent about the weight given their results, it remains true that the presented analysis has many shortcomings. Finally, its association with such an editorial,⁴ based on future positive possibilities of concomitant therapy with inhaled NO and PhE, looked to us quite dangerous because we are not convinced by the ability of PhE to i) increase oxygenation in ARDS patients; ii) convert inhaled NO nonresponders to responders; and iii) improve the outcome of ARDS patients in synergism with inhaled NO, particularly because of the drawbacks of the study,¹ and also because it was not focused on the potential side effects of the α -adrenergic vasoconstrictor such as on splanchnic vascular beds. After completion of the study,¹ did the patients continue to receive both treatments (PhE+inhaled NO) which resulted in a survival rate of 33.3%?

References

1. Doering EB, Hanson CWIII, Reily DJ, Marshall C, Marshall BE: Improvement in oxygenation by phenylephrine and nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome. *ANESTHESIOLOGY* 1997; 87:18-25
2. Troncy E, Francoeur M, Salazkin I, Yang F, Charbonneau M, Leclerc G, Vinay P, Blaise G: Extra-pulmonary effects of inhaled nitric oxide in swine with and without phenylephrine. *Br J Anaesth* 1997; 79:631-40
3. Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, Guimond J-G, Blair L, Charbonneau M, Blaise G: Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide? (research letter) *The Lancet* 1997; 350(9071):111-2
4. Pearl RG: Phenylephrine and inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome - When are two better than one? (editorial) *ANESTHESIOLOGY* 1997; 87:1-3
5. Dawson CA: Role of pulmonary vasomotion in the physiology of the lung. *Physiol Rev* 1984; 64:544-616
6. Kobayashi Y, Amenta F: Neurotransmitter receptors in the pulmonary circulation with particular emphasis on pulmonary endothelium. *J Auton Pharmacol* 1994; 14:137-64
7. Hebb C: Motor innervation of the pulmonary blood vessels of mammals, *The pulmonary circulation and interstitial space*. Edited by Fishman AP, Hecht HH, Chicago, University of Chicago Press, 1969, pp 195-217
8. Dodds WJ: The pig model for biomedical research. *Fed Proc* 1982; 41:247-56
9. Zellers TM, Vanhoutte PM: Heterogeneity of endothelium-dependent and independent responses among large and small porcine pulmonary arteries. *Pulmonary Pharmacology* 1989; 2:201-8

10. Rich S, Braunwald E, Grossman W: Pulmonary hypertension (Chapter 25), Heart disease - A textbook of cardiovascular medicine, 5th Edition. Edited by Braunwald E, Philadelphia, WB Saunders Company, 1997, pp 780-806
11. Goldring RM, Turino GM, Cohen G, Jameson AG, Bass BG, Fishman AP: The catecholamines in the pulmonary arterial pressor response to acute hypoxia. *J Clin Invest* 1962; 41:1211-21
12. Rich S, Gubin S, Hart K: The effects of phenylephrine on right ventricular performance in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 1990; 98:1102-6
13. Fishman AP: The enigma of hypoxic pulmonary vasoconstriction, *The pulmonary circulation: Normal and abnormal*. Edited by Fishman AP, Philadelphia, University of Pennsylvania Press, 1990, pp 109-29
14. Troncy E, Francœur M, Blaise G: Inhaled nitric oxide: clinical applications, indications, and toxicology. *Can J Anæsth* 1997; 44:973-88
15. Dellinger RP, Zimmerman JL, Hyers TM, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Damask MC, Davis K Jr, Criner GJ: Inhaled nitric oxide in ARDS: Preliminary results of a multicenter clinical trial (abstract). *Crit Care Med* 1996; 24:A29
16. Manktelow C, Bigatello LM, Hess D, Hurford WE: Physiologic determinants of the response to inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *ANESTHESIOLOGY* 1997; 87:297-307
17. Puybasset L, Stewart TE, rouby J-J, Cluzel P, Mourgeon E, Belin MF, Arthaud M, Landault C, Viars P: Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with ARDS. *ANESTHESIOLOGY* 1994; 80:1254-67

Pour conclure, même si les non-répondeurs sont difficilement prévisibles et explicables, il demeure que le NO inhalé augmente la PaO₂ des patients en SDRA de plus de 20% pour près de 63% d'entre eux en comparaison de 24%⁽⁵²⁴⁾ pour la thérapie conventionnelle. Cette réponse est suffisante pour permettre de diminuer le niveau de support ventilatoire et donc son potentiel iatrogénique. Malheureusement, il apparaît maintenant que cette réponse positive au NO inhalé est temporaire, bientôt rejointe par la thérapie conventionnelle.^(288, 524) Cette découverte récente questionne dès lors l'utilité de l'utilisation du NO inhalé pour améliorer la fonction pulmonaire du patient souffrant de SDRA.

9.5.4 Impact du NO inhalé sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité du SDRA.

Tel que précisé dans l'article de revue (page 68), la multitude de séries de cas^(31, 120, 122, 180, 192, 232, 233, 247-249, 263, 278-282, 579, 581-586, 588, 589, 591-604, 623-625, 631-633) étudiant les effets du NO inhalé dans le traitement du SDRA ne permet pas de déterminer l'influence du NO inhalé sur la fonction pulmonaire, la morbidité et la mortalité de ces patients en SDRA en raison de gros manques méthodologiques (absence de groupe contrôle à l'exception de Chollet-Martin et coll.,⁽¹⁹²⁾ de randomisation et de standardisation des protocoles). Le premier moyen d'évaluation est la réalisation d'une méta-analyse sur les données disponibles de ces 46 études qui malheureusement pâtit des immenses variabilités inter-études concernant le design expérimental, la sélection des patients, le choix du système d'administration et de la dose de NO inhalé, les traitements de support, etc. La majorité de ces études retrouve les effets initiaux classiques du NO inhalé sur la fonction pulmonaire (cf. Tableau de l'article de revue, page 69), à savoir baisse de l'hypertension pulmonaire et amélioration de l'oxygénation. La mortalité globale des 539 patients traités par le NO inhalé est de 50,5%, ce qui ne diffère pas des valeurs obtenues pour les études de traitement du SDRA sans NO inhalé (cf. paragraphe 9.2.1). De plus, le sepsis ne constitue pas une cause de mortalité élevée puisque 48 des 91 patients recensés septiques, soit 52,75%, meurent avec le traitement au NO inhalé.

Le deuxième moyen d'évaluation repose sur une analyse rétrospective des données collectées au sein d'un même groupe. Trois études de ce genre ont été réalisées et publiées,

respectivement en Allemagne (le groupe de patients traités au NO inhalé est comparé à un groupe de patients similaires sans NO inhalé),⁽⁶⁰⁶⁾ dans les pays Scandinaves⁽⁶⁰⁷⁾ et aux États-Unis d'Amérique,⁽⁶⁰⁸⁾ les deux dernières explorant seulement un groupe expérimental. Les trois études soulignent les effets initiaux du NO inhalé sur la fonction pulmonaire des répondeurs (hausse du score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ par plus de 25%, baisse de la PAP de 3 mmHg).^(606, 608) Ces effets bénéfiques furent soutenus dans le temps, du moins après 48 heures.⁽⁶⁰⁸⁾ Toutefois, les trois études relèvent des résultats décevants au niveau de la mortalité : 31% dans les deux groupes,⁽⁶⁰⁶⁾ 60%⁽⁶⁰⁷⁾ et 57% pour les répondeurs au NO inhalé.⁽⁶⁰⁸⁾

Bien que ces deux types d'analyse soient purement indicatifs et ne soient vraiment pas bâtis pour évaluer l'impact sur la mortalité, ils soulignent déjà un point important : si le NO inhalé est pour avoir un impact sur la mortalité, assurément il n'est pas très élevé. Il s'en suit que seules des études prospectives, randomisées avec groupe contrôle seront à même de répondre adéquatement à ces questions. Notre étude pilote de phase III^(30, 288) montre que les effets bénéfiques initiaux du NO inhalé sur la fonction pulmonaire ne sont pas soutenus dans le temps et la différence entre les deux groupes s'efface après 24 heures. Le NO inhalé ne modifie pas non plus la mortalité de la pathologie et nous avons observé une tendance à l'amélioration sur certains critères de morbidité tels que la durée de ventilation mécanique, le taux de succès thérapeutique ou le score d'atteinte radiographique thoracique. Étant donnée la taille d'échantillon de notre population de patients en SDRA, il est toutefois difficile d'exclure complètement un potentiel effet du NO inhalé sur la mortalité de cette maladie, mais à coup sûr sa mise en évidence sera très délicate. Des résultats absolument identiques ont été obtenus par Michael et coll.⁽⁶⁰⁹⁾ La taille d'échantillon requise pour obtenir une différence statistique significative après 3 jours de 0,2 mmHg sur le score $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ entre les groupes NO inhalé et contrôle a été évaluée par les auteurs à 264 000. Ceci confirme donc les doutes vis-à-vis du degré d'efficacité du NO inhalé. Toutefois, les auteurs ont relevé une corrélation intéressante positive entre la possibilité de diminuer le support ventilatoire (baisse de $\text{FiO}_2 > 0,15$) après 3 jours de traitement (conventionnel ou avec NO inhalé) et la réversibilité du SDRA, ainsi que la survie.⁽⁶⁰⁹⁾

Finalement, trois études multicentriques prospectives, randomisées, avec groupe contrôle ont été entreprises ces dernières années.⁽⁵²²⁻⁵²⁴⁾ Les études Française⁽⁵²²⁾ et Européenne,⁽⁵²³⁾ toutes deux de phase III et regroupant respectivement, 27 (et 208 patients) et 30 (et 171 patients) centres, n'ont démontré aucun effet du NO inhalé sur la mortalité (autour de 40%) et la durée de ventilation mécanique. Initialement prévue pour collecter 490 patients, l'étude Européenne a dû être interrompue malheureusement à cause des difficultés de recrutement des patients, de l'hétérogénéité entre les centres et aussi de difficultés techniques avec le système d'administration (Maurice LAMY, Professeur, Centre Hospitalier Universitaire de Liège, communication personnelle, juillet 1997). Par ailleurs, les deux études éprouvent de multiples problèmes d'analyse statistique (Didier PAYEN, Professeur, Hôpital Lariboisière, communication personnelle, mars 1998), ce qui explique les délais fort longs entre la fin de la collecte des données et la publication des résultats. L'étude Américaine de phase II complétée l'année dernière⁽⁵²⁴⁾ n'échappe pas non plus à la critique.^(629, 638) Recrutant 177 patients dans 30 centres, cette étude exclue les patients atteints de SDRA d'origine septique afin d'augmenter le ratio signal (effet du NO inhalé) / bruit de fond (nombreux facteurs interactifs) pour détecter un quelconque effet bénéfique. Cette étude ne révéla pas d'effet sur la mortalité ou le succès thérapeutique pour aucune des cinq doses testées (30% de mortalité pour le placebo ; 32% pour FiNO = 1,25 ppm ; 24% pour FiNO = 5 ppm ; 31% pour FiNO = 20 ppm ; 30% pour FiNO = 40 ppm, et 38% pour FiNO = 80 ppm) mais elle révéla une tendance à l'amélioration sur ces paramètres pour une FiNO égale à 5 ppm, un effet soutenu dans le temps (au moins jusqu'au quatrième jour de traitement) sur la fonction pulmonaire et une absence de toxicité de la part du NO inhalé. Une étude de phase III nécessitant un très large échantillon ciblé est nécessaire pour évaluer le véritable impact du NO inhalé sur le devenir des patients SDRA ; elle est en cours actuellement à la seule dose de 5 ppm.

9.5.5 Conclusions.

La réalisation d'une cinquantaine d'études en cinq ans nous aura appris beaucoup sur l'utilisation du NO inhalé dans le SDRA. Il apparaît clairement que le NO inhalé n'est pas le *magic bullet* espéré du SDRA (mais en existe-t'il un ?) et cette conclusion supporte les propos prémonitoires de Sahebjami.⁽⁵⁸⁰⁾ Ce dernier mettait en cause la sélectivité du NO inhalé

pour prévoir un manque d'efficacité sur la mortalité du SDRA. En grande majorité, les études ont observé des effets initiaux bénéfiques du NO inhalé sur l'oxygénation et l'hypertension pulmonaire des patients atteints de SDRA (*cf.* Tableau I, article de revue, page 67). Toutefois, ces effets bénéfiques sur la fonction pulmonaire semblent transitoires.^(30, 288, 609) Les risques de toxicité aiguë avec production de NO₂ et de méthémoglobine, de toxicité subaiguë sur le dysfonctionnement plaquettaire et rénal, de toxicité chronique avec le développement d'une dépendance vis-à-vis du NO inhalé, semblent écartés notamment grâce aux développements technologiques (systèmes d'administration) et techniques (évaluation quotidienne d'une dose optimale sur un critère prédéterminé tel que l'oxygénation). Des incertitudes persistent toutefois quant au moment où initier le traitement par NO inhalé, sur son utilisation prolongée, la non-réponse au NO inhalé et les éventuels effets secondaires vis-à-vis du processus inflammatoire.

On ne compte plus le nombre de travaux expérimentaux, voire même de séries de cas cliniques, qui rapportent une activité anti-inflammatoire du NO inhalé se caractérisant par une capacité à piéger et inhiber les radicaux libres dérivés de l'O₂, à réduire la toxicité de l'O₂ et surtout à inhiber l'activation, l'adhésion et l'agrégation plaquettaire et leucocytaire (*cf.* paragraphes 8.1.3.a et 8.1.4), une activité anti-vasotrophique et un support hémodynamique rénal de la part du NO inhalé dans des situations de stress. Or, ces effets ne semblent pas avoir de signification clinique dans le SDRA puisqu'ils n'influencent pas positivement l'évolution de la maladie. Avec la confirmation des données des méta-analyses⁽²⁸⁷⁾ et autres études rétrospectives⁽⁶⁰⁶⁻⁶⁰⁸⁾ par les résultats des essais cliniques randomisés prospectifs avec groupe contrôle,^(288, 522-524, 609) il apparaît peu probable de mettre en évidence un quelconque effet bénéfique du NO inhalé seul sur le devenir des patients atteints de SDRA. Une seule étude de phase III est encore en cours actuellement aux États-Unis d'Amérique sur une population la plus homogène possible et à la seule dose de 5 ppm. En attendant ces résultats, la question de la poursuite du traitement par NO inhalé des patients souffrant de SDRA a déjà été posée.^(630, 638) En listant les arguments contre et pour l'utilisation du NO inhalé dans le SDRA, Payen⁽⁶³⁰⁾ oppose l'utilisation d'une substance potentiellement toxique dont les effets bénéfiques sur la fonction pulmonaire sont uniquement transitoires et peuvent être reproduits facilement par d'autres moyens tels que la position en décubitus

ventral, dont on ignore les répercussions sur la défaillance des autres organes alors que seuls 5 à 20% de la population de SDRA meurent de défaillance respiratoire à l'utilité déjà démontrée du NO inhalé dans le SDRA (réduction des besoins en ECMO aussi bien chez l'enfant^(11, 12) que chez l'adulte^(629, 630)), à la possibilité de détecter précocement avec le NO inhalé la réversibilité potentielle de la pathologie, à la multiplicité d'action du NO inhalé et au fait qu'aucune étude de thérapie nouvelle dans le SDRA n'a montré d'effets bénéfiques sur la morbidité ou la mortalité de la maladie. Or, nous avons observé avec le NO inhalé une tendance à diminuer la durée de ventilation mécanique des patients SDRA⁽²⁸⁸⁾ et cette tendance à diminuer la morbidité du SDRA a été aussi retrouvée dans l'étude de Dellinger et coll.⁽⁵²⁴⁾

La question pourrait être formulée différemment : Peut-on se passer du NO inhalé dans le traitement du SDRA à l'heure actuelle ? La réponse est définitivement non. Aucune étude prospective randomisée avec groupe contrôle n'a, à ce jour, établi la stratégie ventilatoire la plus efficace pour les patients souffrant de SDRA. Si un traitement initial en mode VC avec comme souci de limiter le risque de volotraumatisme et la toxicité de l'O₂ pouvait être convenable il y a quelques années, il demeure toujours aussi difficile de quantifier le niveau optimal de PEEP (évaluation clinique avec ses dangers, par tomodynamométrie ou par étude de la mécanique respiratoire avec ses inconvénients et sa fiabilité non assurée). La ventilation en mode PC doit maintenant être recommandée en première intention, particulièrement à la lumière des dernières études rétrospective⁽²⁹¹⁾ et prospective.⁽⁴³⁸⁾ Le degré d'hypercapnie permis peut être partiellement contrôlé par l'injection de bicarbonates. On peut aussi avoir recours à d'autres techniques regroupant l'ECCO₂R, le NO inhalé ou l'insufflation trachéale d'O₂ (cf. paragraphe 9.4.1.a). Les techniques d'assistance respiratoire par CEC sont complexes, risquées, extrêmement onéreuses (Morris et coll.⁽⁴⁵²⁾ estimaient, il y a quatre ans, que si les 12 500 cas annuels attendus de SDRA aux États-Unis d'Amérique étaient traités par ECCO₂R plutôt que par ventilation mécanique seule, le coût des soins hospitaliers augmenterait de 450 000 000\$ par année) et ne peuvent donc constituer une solution envisageable que dans un nombre limité de cas. De plus, le NO inhalé, l'insufflation intratrachéale d'O₂ aident au contrôle de l'hypoxie persistante et/ou du risque accru de volotraumatisme, tout comme la ventilation en décubitus ventral. Or, l'insufflation intra-

trachéale d'O₂ présente des risques de volotraumatisme supplémentaire,⁽²⁶²⁾ tandis que la position en décubitus ventral expose à certains avatars éventuels.^(311, 417, 419) Dès lors, le NO inhalé se situe avantageusement par rapport à ces autres possibilités, en attendant que la ventilation liquidienne partielle ait fait ses preuves dans ces conditions.⁽⁴⁵⁶⁾ L'administration de surfactant et de PGI₂ inhalé pourraient aussi être bénéfiques mais nécessitent avant tout des résultats positifs provenant d'études tangibles pour le premier et on ne voit pas trop pourquoi la PGI₂ réussirait là où le NO aurait échoué. Finalement, le NO inhalé s'inscrit parfaitement dans une optique d'optimisation thérapeutique avec un synergisme évident pour les autres méthodes thérapeutiques utilisées (techniques ventilatoires, manipulation de la voie NO / GMPc, autres vasodilatateurs sélectifs comme la PGI₂ fonctionnant sur une voie métabolique différente ou vasoconstricteurs comme l'almitrine augmentant la VPH ; cf. paragraphe 8.2) surtout en rapport à sa multiplicité d'action (anti-hypertenseur, oxygénateur, anti-inflammatoire, effets extra pulmonaires).⁽²⁷⁹⁻²⁸²⁾ C'est dans ce sens que nous avons écrit l'éditorial accompagnant l'article de Gillart et coll.⁽²⁸⁰⁾ exposant l'utilisation concomitante de NO inhalé, d'almitrine et de la ventilation en décubitus ventral chez des patients souffrant de SDRA.

Gilbert Blaise MD,
Eric Troncy DVM MSc

The best approach to ARDS?

IN this issue Gillart *et al.*¹ report the effects on oxygenation of three therapeutic modalities used alone or together in patients suffering from severe established acute respiratory distress syndrome (ARDS). This pathology is characterised by bilateral pulmonary infiltrates due to high permeability pulmonary oedema, atelectasis, infection, pulmonary hypertension due to vasoconstriction and vascular obstruction by leucocytes and platelets aggregates; low compliance and hypoxaemia. This last is mainly due to mismatching between ventilation and perfusion. Blood having perfused poorly ventilated (low ventilation/perfusion ratio) and incompletely oxygenated alveoli mixes, in the pulmonary veins, with fully oxygenated blood from areas with normal ventilation/perfusion ratio causing venous admixture. The objectives of treatment for patients suffering from ARDS are to improve oxygenation, avoid further pulmonary trauma and to help lung healing.

The physician has in his armamentarium several possible approaches to improve oxygenation. The first is to increase inspired fraction in oxygen (FiO_2); all the patients are ventilated with a gas mixture containing a high concentration of O_2 . The second, and most frequently used, is positive end-expiratory pressure (PEEP) which, by its recruiting effect on alveoli, decreases the amount and the intensity of low ventilation/perfusion areas in the lung. More recently, new medications, new modes of ventilation and positioning have demonstrated beneficial effects on immediate pulmonary function. The ventilation/perfusion matching may be improved either by increasing blood flow to ventilated alveoli or by decreasing pulmonary flow to poorly or not ventilated alveoli. Vasodilators must dilate mainly the vessels perfusing ventilated alveoli to improve oxygenation and this is why vasodilators have to be administered via the airways to have sufficient selectivity to improve oxygenation. Among the new therapies is the use of inhaled nitric oxide (NO). Its pulmonary vasodilatory effect on vessels perfusing the ventilated alveoli induces a blood flow steal phenomenon toward the ventilated alveoli improving oxygenation and decreasing pulmonary pressure.² Its effect on platelets and leucocyte activation might also

modulate the inflammatory response and modify the disease process causing the ARDS. Inhaled prostacyclin also improve oxygenation and has been successful in patients suffering from ARDS. The combination of these two treatments might have an additive effect on oxygenation as they act through different mechanisms of vasodilatation. Inhaled NO, by stimulating soluble guanylate cyclase, increases cyclic 3'-5" guanosine monophosphate (cGMP) and prostacyclin, by stimulating adenylate cyclase, increases cAMP levels. The effects of these vasodilators may be increased by medications such as phosphodiesterases 3 and 5 blockers which diminish catabolism of cAMP and cGMP respectively. It has been shown that zaprinast (Ziprinist™) and pyridamol (Persantin™) potentiate the pulmonary effects of inhaled NO. Zaprinast was also recently tested with success in aerolization of experimental pulmonary hypertension.³

Vasoconstrictors which will facilitate pulmonary vasoconstriction by decreasing flow to low ventilation/perfusion ratio lung units might by themselves increase pulmonary pressure, improve oxygenation and potentiate the effect of local vasodilators such as inhaled NO and inhaled prostacyclin. Almitrine is a pulmonary vasoconstrictor which potentiates hypoxic pulmonary vasoconstriction and increases cardiac output. It has been used either alone or in combination with inhaled NO to improve oxygenation in ARDS. Both medications have an additive effect on oxygenation and opposite effect on pulmonary pressure. Is this action specific for almitrine or is it the potential of any vasoconstrictor? One publication⁴ suggested that phenylephrine may be synergistic with inhaled NO in ARDS patients despite a sparse distribution of alpha receptors on pulmonary arteries. Moreover, due to limitations in the study design, these results must be approached with prudence. The association of other vasoconstrictors such as angiotensin and vasopressin and inhaled NO has not been tested.

In supine ARDS patients, the dependent dorsal pulmonary regions are collapsed under the increased weight of the oedema-laden lungs. Turning the patients suffering from severe ARDS from supine to prone

position improves oxygenation. Proposed explanations include a prone position-induced (1) recruitment of previously collapsed alveoli; (2) increase in functional residual capacity; (3) change in regional diaphragm motion; (4) redistribution of perfusion along a gravitational gradient toward less injured lung regions associated with (5) a better drainage of secretions. The effect of positioning on ventilation could be long-lasting even after returning to supine position and potentiates the effect of pulmonary vasoactive medications on oxygenation.

In this issue of the Canadian Journal of Anaesthesia, Gillart *et al.*¹ have demonstrated additive effects of inhaled NO, almitrine and ventilation in the prone position. They studied patients over a short time, therefore we cannot conclude if this potentiation of the three techniques in improving oxygenation is long-lasting. Their findings are consistent with results of a Swiss group⁵ that, by acting through different mechanisms on ventilation/perfusion relationships, the prone position, inhaled NO, and almitrine may exert additive beneficial effects on gas exchange in the lungs of ARDS patients.

Recently, new techniques of ventilation have been used to improve oxygenation or to prevent ventilation-induced pulmonary trauma. Those worth mentioning include: liquid (perfluorocarbon) ventilation, high frequency ventilation, inverse ratio ventilation and protective ventilation (low tidal volume, low inspiratory pressure) with permissive hypercapnia. Even if this last mode of mechanical ventilation, which reduces inspiratory pressure and tidal volume, is effective in reducing lung trauma in animals, its preventive beneficial effect in humans with ARDS is difficult to show. Indeed, if Amato *et al.*⁶ have shown an impressive advantage of protective mechanical ventilation, compared with classical mechanical ventilation, on short term mortality, weaning from mechanical ventilation and the incidence of barotrauma. Long term survival rate was not modified by protective ventilation. Others, in a large retrospective study,⁷ have not found a relation between ventilatory pressure and pneumothorax and Stewart *et al.*⁸ even found an increase in morbidity in patients whose lungs were ventilated with protective pressure limit ventilation. As suggested three years ago,⁹ it has not been possible to demonstrate the efficacy of any new treatment on mortality in ARDS over the last 20 years, even if the incidence and the global mortality of the pathology have decreased during the same period. In future it will be very difficult or impossible to demonstrate that a single change in ventilatory treatment could have an effect on mortality in ARDS patients. The future is turned rather toward therapeutic optimisation including (1) decrease in extravascular lung water (diuretics or haemofiltration); (2) selection of the best

192

ventilatory mode (PEEP level, pressure-controlled, with inverse ratio ventilation, etc.); (3) permissive hypercapnia; (4) vasoactive support (adrenergic drugs, perfusion, transfusion, etc.); (5) treatment of infection and corticosteroids; and (6) correction of hypoxaemia by additional continuous tracheal gas insufflation, inhaled NO inducing pulmonary vasodilation and steal phenomenon, almitrine (or other vasoconstrictor) increasing the hypoxic pulmonary vasoconstriction, prone position helping to the alveolar recruitment and better ventilation/perfusion matching, and drainage of pleural or mediastinal effusions. Patients responding rapidly to the optimised treatment had a better prognosis.¹⁰ We have several tools to treat the respiratory aspect of ARDS, but patients rarely die from respiratory failure. The indication to treat these patients with ECMO has almost disappeared and the new challenge is to prevent or to modulate adequately (either inhibition or stimulation) the systemic inflammatory response and prevent the multiple organ failure which kill these patients. Control of the NO pathway, either by selective inhibition of NO synthase, or by administration of exogenous NO, is one of the means to modulate the inflammatory response.

Quelle est la meilleure approche au SDRA?

Dans ce numéro, Gillart *et al.*¹ rapportent les effets sur l'oxygénation de trois modalités thérapeutiques utilisées de façon isolée ou ensemble chez des patients présentant un SDRA sévère et bien établi. Cette pathologie est caractérisée par des infiltrats pulmonaires bilatéraux dus à de l'œdème pulmonaire secondaire à une perméabilité élevée, à de l'atélectasie, de l'infection, de l'hypertension pulmonaire secondaire à la vasoconstriction et à l'occlusion vasculaire par des leucocytes et des agrégats plaquet-taires, ainsi qu'une compliance faible et de l'hypoxémie. Cette dernière est principalement due à des inégalités ventilation-perfusion (V/Q). Le sang provenant des alvéoles mal ventilées (rapport V/Q faible) et mal oxygénées se mélange dans les veines pulmonaires avec le sang complètement oxygéné provenant des alvéoles avec rapport V/Q normal, causant une admission veineuse, réalisant un effet shunt. Les objectifs du traitement pour les patients souffrant de SDRA sont d'améliorer l'oxygénation, d'éviter tout trauma pulmonaire additionnel et d'aider le poumon à guérir.

Le médecin a en mains plusieurs approches possibles pour améliorer l'oxygénation. La première est d'accroître la fraction inspirée d'oxygène (FiO_2); tous les patients sont ventilés avec un mélange gazeux contenant une haute concentration d'oxygène. La seconde et plus fréquemment utilisée est la pression positive de fin d'expiration (PEEP) qui, par son effet de recrutement des alvéoles, diminue la quantité et l'intensité des zones de bas rapport V/Q dans le poumon. Plus récemment, de nouvelles médications, de nouveaux modes de ventilation et de positionnement ont démontré des effets bénéfiques sur la fonction pulmonaire immédiate. L'adéquation ventilation/perfusion peut être favorisée soit en augmentant le flot sanguin aux alvéoles bien ventilées ou en diminuant le flot aux alvéoles mal ventilées. Pour améliorer l'oxygénation, les vasodilatateurs doivent agir principalement sur les vaisseaux perfusant les alvéoles ventilées et c'est pour cette raison que les vasodilatateurs doivent être administrés par les voies aériennes pour avoir la sélectivité suffisante pour améliorer l'oxygénation. Parmi les nouvelles thérapies, on retrouve l'oxyde nitrique (NO). Son effet de vasodilatation pulmonaire sur les vaisseaux perfusant les alvéoles ventilées produit un phénomène de vol sanguin vers les alvéoles ventilées améliorant l'oxygénation et diminuant la pression pulmonaire². Ses effets sur les plaquettes et sur l'activation leucocytaire peuvent aussi moduler la réponse inflammatoire et modifier le processus morbide causant le SDRA. Des protacyclines administrées par inhalation améliorent aussi l'oxygénation et ont été utilisées avec succès chez des patients souffrant de SDRA. La combinaison de ces deux traitements pourrait avoir un effet additif sur l'oxygénation dans la mesure où ils agissent par différents mécanismes de vasodilatation. Le NO inhalé, en stimulant la guanylate cyclase soluble, augmente la concentration de guanosine monophosphate cyclique 3'-5' (cGMP) de même que la prostacycline qui par sa stimulation de l'adénylate cyclase augmente les niveaux de cAMP. Les effets de ces vasodilatateurs peuvent être augmentés par des médications telles que les inhibiteurs des phosphodiesterases 3 et 5 qui diminuent respectivement le catabolisme de la cAMP et de la cGMP. On a démontré que le zaprinast (Ziprinist®) et que le pyridamole (Persantin®) potentialisent les effets pulmonaires du NO inhalé. Récemment, on a aussi testé avec succès le zaprinast en aérosolisation dans l'hypertension pulmonaire expérimentale³.

Les vasoconstricteurs qui facilitent la vasoconstriction pulmonaire en diminuant le flot aux unités pulmonaires avec V/Q bas pourraient aussi augmenter la

pression pulmonaire, améliorer l'oxygénation et potentialiser l'effet des vasodilatateurs comme le NO et la prostacycline inhalés. L'almitrine est un vasoconstricteur pulmonaire qui potentialise la vasoconstriction pulmonaire hypoxique et augmente le débit cardiaque. L'almitrine a été utilisé seul ou en combinaison avec le NO inhalé pour améliorer l'oxygénation dans le SDRA. Les deux médications ont un effet additif sur l'oxygénation et un effet opposé sur la pression pulmonaire. Cet effet est-il spécifique à l'almitrine ou est-il le même pour tous les vasoconstricteurs? Une publication⁴ suggère que la phényléphrine pourrait avoir un effet synergique avec le NO inhalé chez les patients présentant un SDRA malgré la faible distribution des récepteurs alpha au niveau des artères pulmonaires. Cependant, à cause des limites du protocole de l'étude, ces résultats doivent être considérés avec prudence. L'association d'autres vasoconstricteurs tels l'angiotensine et la vasopressine avec le NO inhalé n'a pas été expérimentée.

Chez les patients avec SDRA en position dorsale, les régions pulmonaires dépendantes sont collabées sous le poids accru des poumons chargés d'œdème. Le fait de tourner ces patients de la position dorsale à la position ventrale améliore l'oxygénation. Les explications proposées comportent les éléments suivants provoqués par le décubitus ventral : 1-un recrutement d'alvéoles déjà collabées 2-une augmentation de la capacité résiduelle fonctionnelle 3-une modification régionale des mouvements diaphragmatiques 4-une redistribution de la perfusion selon un gradient lié à la gravité vers les régions pulmonaires moins atteintes 5-un meilleur drainage des sécrétions. L'effet sur la ventilation du changement de position peut être durable et persister même après le retour en décubitus dorsal et potentialiser les effets des médicaments vasoactifs pulmonaires sur l'oxygénation.

Dans ce numéro, Gillart *et al.*¹ ont montré les effets additifs du NO inhalé, de l'almitrine et de la ventilation en décubitus ventral. Ils ont étudié les patients durant une courte période de temps, ce qui ne nous permet pas de conclure que l'amélioration de l'oxygénation par ces trois techniques soit de longue durée. Leurs trouvailles concordent avec les résultats d'un groupe suisse⁵ à savoir que, bien qu'agissant par des mécanismes différents sur le rapport V/Q, le décubitus ventral, le NO inhalé et l'almitrine peuvent avoir des effets bénéfiques additifs sur les échanges gazeux dans les poumons de patients atteints de SDRA.

Récemment, on a utilisé de nouvelles techniques de ventilation pour améliorer l'oxygénation ou pour prévenir le barotrauma pulmonaire due à cette ventilation. Celles qui valent la peine d'être mentionnées sont : la ventilation liquide (avec perfluorocarbène), la ventilation à haute fréquence, la ventilation à rapports

inversés et la ventilation protectrice (volume courant et pression inspiratoire faibles) avec hypercarbie permissive. Même si ce dernier mode de ventilation mécanique, qui utilise des volumes et pression réduites, réduit de façon efficace les trauma pulmonaires chez les animaux, son effet bénéfique préventif est difficile à démontrer chez les humains avec SDRA. En effet, bien que Amato *et al.*⁶ aient montré un avantage marqué de la ventilation mécanique protectrice, par rapport à la ventilation conventionnelle, sur la mortalité à court terme, sur le sevrage de la ventilation mécanique et sur l'incidence de barotrauma, la survie à long terme n'a pas été modifiée. D'autres, dans une étude rétrospective étendue⁷, n'ont pas trouvé de relation entre la pression de ventilation et le pneumothorax et Stewart *et al.*⁸ ont même trouvé une augmentation de morbidité chez les patients ventilés avec une ventilation avec limite de pression protectrice. Tel que suggéré il y a 3 ans,⁹ il n'a pas été possible de démontrer l'efficacité d'aucun nouveau traitement sur la mortalité en SDRA depuis 20 ans, même si l'incidence et la mortalité globale de cette pathologie ont diminué durant la même période. Dans le futur, il sera très difficile voire impossible de démontrer qu'un changement isolé dans le traitement ventilatoire puisse avoir un effet sur la mortalité dans le SDRA. Le futur réside plutôt dans une optimisation de la thérapeutique, ce qui inclura : 1-une diminution de l'eau pulmonaire extravasculaire (diurétiques ou hémofiltration), 2-choix du meilleur mode ventilatoire (niveau de PEEP, contrôle de pression, rapports inversés, etc.), 3-hypercarbie permissive, 4-support vasoactif (médicaments adrénergiques, perfusions, transfusions, etc.), 5-traitement de l'infection et corticostéroïdes, 6-correction de l'hypoxémie par insufflation additionnelle continue de gaz dans la trachée, inhalation de NO pour produire de la vasodilatation pulmonaire et des phénomènes de vol, de l'almitrine (ou d'autres vasoconstricteurs) pour accroître la vasoconstriction pulmonaire hypoxique, le décubitus ventral pour favoriser le recrutement alvéolaire et l'adéquation de la ventilation/perfusion, ainsi que le drainage des épanchements pleuraux ou mé-diastinaux. Les patients qui répondent rapidement au traitement ont un meilleur pronostic¹⁰. Nous avons plusieurs armes pour traiter l'aspect respiratoire du SRDA mais les patients meurent rarement d'insuffisance respiratoire. L'indication de traiter ces patients avec ECMO (oxygénation à membrane extra-corporelle) est presque disparue et le nouveau défi consiste à prévenir ou à moduler adéquatement (soit par stimulation soit par inhibition) la réponse inflammatoire systémique et à prévenir la défaillance de multiples organes qui tue ces patients. Le contrôle de la voie du NO, ou par une inhibition sélective de la NO synthétase, ou par l'administration de NO exogène, est une des façons de moduler la réponse inflammatoire.

References

- 1 Gillart T, Bazin JE, Casserant B, *et al.* Combined nitric oxide inhalation, prone positioning and almitrine infusion improve oxygenation in severe ARDS. *Can J Anaesth* 1998; 45: 402-9.
- 2 Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, *et al.* Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide? (Letter) *Lancet* 1997; 350: 111-2.
- 3 Ichinose F, Adrie C, Hurford WE, Bloch KD, Zapol WM. Selective pulmonary vasodilation induced by aerosolized zaprinast. *Anesthesiology* 1998; 88: 410-6.
- 4 Doering EB, Hanson CW III, Reily DJ, Marshall C, Marshall BE. Improvement in oxygenation by phenylephrine and nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87: 18-25.
- 5 Jolliet P, Bulpa P, Ritz M, Riscou B, Lopez J, Chevrolet J-C. Additive beneficial effects of the prone position, nitric oxide, and almitrine bismesylate on gas exchange and oxygen transport in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1997; 25: 786-94.
- 6 Amato MBP, Barbas CSV, Medeiros DM, *et al.* Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 347-54.
- 7 Weg JG, Anzueto A, Balk RA, *et al.* The relation of pneumothorax and other air leaks to mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 341-6.
- 8 Stewart TE, Meade MO, Cook DJ, *et al.* Evaluation of a ventilation strategy to prevent barotrauma in patients at high risk for acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338: 355-61.
- 9 Petros AJ, Marshall JC, van Saene HK. Should morbidity replace mortality as an endpoint for clinical trials in intensive care? *Lancet* 1995; 345: 369-71.
- 10 Guinard N, Beloucif S, Gatecel C, Mateo J, Payen D. Interest of a therapeutic optimization strategy in severe ARDS. *Chest* 1997; 111: 1000-7.

Il apparaît que le NO inhalé doit demeurer dans la thérapie du SDRA et qu'il doit s'inscrire maintenant comme membre d'un arsenal thérapeutique dont on doit apprendre à se servir de façon plus intelligente et subséquentement efficace. Cette possibilité ne deviendra réalité qu'avec un suivi précis de l'évolution du LPA / SDRA, notamment du processus inflammatoire. Le meilleur outil à ce jour pour réaliser ce suivi semble être l'expression monocyttaire d'HLA-DR⁺. La distinction des phases SRIS et SRAC permettra d'éviter une utilisation décevante du NO inhalé et surtout d'ajuster cette dernière avec les agents adéquats respectivement anti- et pro-inflammatoires (*cf.* paragraphe 9.4.2.b). La détermination du spectre d'évolution du LPA / SDRA permettra de déterminer le moment le plus opportun d'administration du NO inhalé et probablement de réduire le taux de non-réponse (puisqu'il semble fortement lié à la production excessive de NO endogène lors de SRIS) et les risques d'effets délétères sur le processus inflammatoire. Finalement, il ne faut pas oublier non plus que le NO inhalé constitue un outil très intéressant pour prédire l'évolution du SDRA et qu'un avenir potentiel de son utilisation se situe dans la prévention de cette pathologie (*cf.* paragraphes 8.1.4 et 10.0).

Chapitre 7

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

10.0 Place du monoxyde d'azote inhalé dans la thérapeutique du troisième millénaire.

L'utilisation du NO inhalé a connu une croissance importante quasi-exponentielle ces dernières années telle que le démontre le rythme des publications scientifiques la concernant¹ (aucune entre 1985 et 1989, 133 entre 1990 et 1994, puis environ 120 en 1995 et 1996, 172 en 1997 et 85 pour la première partie de l'année 1998). L'évolution technologique fut essentielle à cette progression : passage des cylindres de NO gazeux du grade de recherche médicale au grade pharmaceutique ; passage des systèmes d'injection maison plus ou moins fiables des chercheurs aux systèmes développés par des compagnies spécialisées privilégiant l'administration phasique et adaptée au niveau de la branche inspiratoire, et passage des moniteurs de concentrations de NO_x conçus pour la surveillance environnementale aux appareils développés strictement pour le milieu médical.

Initialement, les domaines les plus intéressés à l'utilisation du NO inhalé furent les soins intensifs pédiatriques et adultes. Pour ces derniers, la pathologie sur laquelle ont été concentrés le plus d'efforts de recherche fut le SDRA. Les derniers résultats obtenus, tels que présentés dans la partie précédente, laissent augurer d'une efficacité clinique du NO inhalé dans le SDRA moins grande que ce que les premières séries de cas et travaux de laboratoire avaient laissé initialement espérer. Toutefois, le NO inhalé conserve une utilité évidente pour le traitement des patients atteints de SDRA et il est certain que de nouvelles applications vont apparaître dans les années à venir afin de maximiser son utilisation. En pédiatrie (*cf.* article de revue, pages 63, 66, 67), les attentes étaient grandes également vis-à-vis du NO inhalé, particulièrement parce qu'il pouvait supplanter les techniques lourdes et dispendieuses de CEC et qu'un défaut de synthèse de NO pouvait être responsable de certaines pathologies néonatales telles que l'hypertension pulmonaire persistante du nouveau-né (HPPN). Là encore, les résultats obtenus ne sont pas enthousiasmants mais ils vont dans le bon sens. Aussi, dans le SDRA pédiatrique, le NO inhalé a-t-il montré des signes

¹ Données obtenues auprès des bases de données MEDLINE et CURRENT CONTENTS le 30 juin 1998.

très encourageants au niveau non seulement de la fonction pulmonaire mais aussi de la survie des patients.⁽⁶³⁹⁾ Toutefois, ces effets se sont aussi montrés soit transitoires,⁽⁶⁴⁰⁾ soit limités, permettant tout de même une réduction des besoins en ECMO.⁽¹¹⁾ Au niveau de l'HPPN, les résultats vont également dans une direction optimiste,^(12, 276, 641) entraînant certaines craintes quant à une généralisation trop hâtive de la thérapie par NO inhalé au détriment de l'ECMO.⁽⁶⁴²⁾ Les risques de toxicité aiguë par production de NO₂ ou de méthémoglobine, ainsi que les troubles de la coagulation sont maintenant mieux maîtrisés mais ils demeurent plus élevés que chez l'adulte. On relève aussi une tendance importante des enfants vers la non-réponse soit initiale, soit retardée.⁽⁶⁴³⁾ Par contre, ils sont sensibles aux effets synergiques du NO inhalé avec les manipulations de la voie NO / GMPc (ajout de PDE),⁽⁶²²⁾ ou l'administration de surfactant dans le SDRA,⁽⁶⁴³⁾ ou les autres techniques ventilatoires telles que la ventilation à haute fréquence oscillatoire^(276, 277) et la ventilation liquidienne partielle.⁽⁶⁴³⁾ Finalement, le NO inhalé s'avère aussi très performant dans le traitement des maladies vasculaires pulmonaires secondaires aux défauts congénitaux cardiaques.⁽⁶⁴³⁻⁶⁴⁷⁾

La chirurgie cardiaque constitue un autre centre important d'utilisation du NO inhalé que ce soit avec des visées diagnostiques (*cf.* article de revue, page 70) ou thérapeutiques pendant ou après la chirurgie,^(229, 645-648) particulièrement lors d'assistance ventriculaire gauche.^(649, 650) Les autres implications cliniques du NO inhalé sont présentées dans l'article de revue (pages 67, 70, 71) et incluent l'hypertension pulmonaire primaire ou toute autre forme d'hypertension pulmonaire, les maladies pulmonaires obstructives chroniques et les maladies bronchospastiques (avec une certaine réserve quant au degré d'efficacité dans ces deux derniers cas) ainsi qu'une utilisation à des fins diagnostiques.

Tous ces travaux nous permettent aujourd'hui d'avoir une connaissance plus approfondie des mécanismes et conditions d'action du NO inhalé : (1) le NO inhalé semble le plus performant lors d'une situation de déficit en NO endogène et ne présente qu'une faible efficacité aussi bien pulmonaire, lors de sepsis (haut taux de non-réponse) ou de tonus vasomoteur pulmonaire normal,^(82, 118) qu'extra pulmonaire⁽¹⁹¹⁾ dans la situation inverse ; (2) l'administration préventive de NO inhalé se montre efficace aussi bien dans des situations

d'ischémie-reperfusion (causant un déficit en NO endogène),^(191, 212) que de sepsis (entraînant une production accrue de NO endogène) ;^(214, 215) (3) la non-réponse au NO inhalé et l'aggravation du SRIS sont fortement liées à la production massive de NO et aux variations de l'environnement oxydoréducteur de l'organisme qui vont modifier la réactivité du NO et de ses formes de transport, et amener le NO inhalé à être soit inefficace, soit délétère.

Il apparaît ainsi que les débouchés d'avenir du NO inhalé se situent dans la prévention de situations conduisant autant à un déficit qu'à un excès de synthèse endogène de NO, ceci afin d'éviter le déclenchement d'un processus inflammatoire incontrôlé et délétère. De nombreux travaux restent à faire afin de prouver l'innocuité et l'efficacité potentielle du NO inhalé ainsi que déterminer la dose la plus efficace en prophylaxie de phénomènes inflammatoires aussi variés que la LPA suivant le by-pass cardio-pulmonaire, ou tout autre acte chirurgical, ainsi que l'ischémie-reperfusion à laquelle sont soumis les organes lors de transplantation. Si nécessaire, on peut envisager aussi que certaines études se penchent sur l'établissement du support anti-inflammatoire le plus adéquat afin de parfaire l'innocuité de la thérapie prophylactique. Cette vision ouvre des perspectives nombreuses et prometteuses, notamment dans le domaine de la transplantation d'organe, particulièrement pulmonaire,⁽⁶⁵¹⁾ avec une manipulation possible de la voie NO / GMPc autant chez le receveur que chez le donneur. Dans les syndromes établis, le NO inhalé requiert un support judicieux de thérapie pro- ou anti-inflammatoire afin de ne pas engendrer d'effets délétères et aussi d'augmenter son efficacité. D'autre part, la poursuite des investigations concernant les effets extra pulmonaires du NO inhalé, particulièrement ses mécanismes d'action, permettra aussi de mieux comprendre et surtout mieux cibler son utilisation en présence de SDMO. Seules ces approches seront à même d'harmoniser la notion d'optimisation thérapeutique susceptible d'aboutir à la maxime première du pharmacologiste : « *Primum, non nocere* ». Cette modulation précise et adéquate de l'inflammation (avec en son centre, le NO, pion essentiel) constitue sans doute le défi le plus important à relever dans les prochaines années pour le corps médical.

BIBLIOGRAPHIE

1. PALMER, R. M., FERRIGE, A. G. & MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; **327**: 524-526.
2. MONCADA, S., PALMER, R. M. & HIGGS, E. A. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. [Revue] [74 refs]. *Biochemical Pharmacology* 1989; **38**: 1709-1715.
3. CULOTTA, E. & KOSHLAND, D. E., JR. NO news is good news. [Revue] [0 refs]. *Science* 1992; **258**: 1862-1865.
4. NATHAN, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. [Revue] [162 refs]. *FASEB Journal* 1992; **6**: 3051-3064.
5. SINGH, S. & EVANS, T. W. Nitric oxide, the biological mediator of the decade: fact or fiction?. [Revue] [112 refs]. *European Respiratory Journal* 1997; **10**: 699-707.
6. ARNOLD, W. P., MITTAL, C. K., KATSUKI, S. & MURAD, F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1977; **74**: 3203-3207.
7. KUKOVETZ, W. R., HOLZMANN, S., WURM, A. & POCH, G. Evidence for cyclic GMP-mediated relaxant effects of nitro-compounds in coronary smooth muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1979; **310**: 129-138.
8. MELLION, B. T., IGNARRO, L. J., OHLSTEIN, E. H., PONTECORVO, E. G., HYMAN, A. L. & KADOWITZ, P. J. Evidence for the inhibitory role of guanosine 3', 5'-monophosphate in ADP-induced human platelet aggregation in the presence of nitric oxide and related vasodilators. *Blood* 1981; **57**: 946-955.
9. BLAISE, G. Endothelium derived relaxing factor/nitric oxide (EDRF/NO): why is it the perfect time to inform the anaesthesiologists about it?. [Éditorial]. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1992; **39**: 765-769.
10. HIGENBOTTAM, T., PEPKE-ZABA, J., SCOTT, J., WOOLMAN, P., COUTTS, C. & WALLWORK, J. Inhaled "Endothelium-derived Relaxing Factor" in primary hypertension (PPH) [Résumé]. *American Review of Respiratory Disease* 1988; **137**: 107.

11. ANONYME. Inhaled nitric oxide in full-term and nearly full-term infants with hypoxic respiratory failure. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group. *New England Journal of Medicine* 1997; 336: 597-604.
12. ROBERTS, J. D., JR., FINEMAN, J. R., MORIN, F. C., 3RD, SHAUL, P. W., RIMAR, S., SCHREIBER, M. D., POLIN, R. A., ZWASS, M. S., ZAYEK, M. M., GROSS, I., HEYMANN, M. A. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide and persistent pulmonary hypertension of the newborn. The Inhaled Nitric Oxide Study Group. *New England Journal of Medicine* 1997; 336: 605-610.
13. CUTHBERTSON, B. H., DELLINGER, P., DYAR, O. J., EVANS, T. E., HIGENBOTTAM, T., LATIMER, R., PAYEN, D., STOTT, S. A., WEBSTER, N. R. & YOUNG, J. D. UK guidelines for the use of inhaled nitric oxide therapy in adult ICUs. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 1212-1218.
14. PUYBASSET, L. & ROUBY, J.-J. Pulmonary uptake and modes of administration of inhaled nitric oxide in mechanically-ventilated patients. *Critical Care* 1998; 2: 9-17.
15. DELLINGER, R. P. Inhaled nitric oxide: can we deliver? [Éditorial]. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 933-935.
16. DUBÉ, L., FRANCOEUR, M., TRONCY, E., CARRIER, R. & BLAISE, G. Comparison of two administration techniques of inhaled nitric oxide on nitrogen dioxide production. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1995; 42: 922-927.
17. SKIMMING, J. W., CASSIN, S. & BLANCH, P. B. Nitric oxide administration using constant-flow ventilation. *Chest* 1995; 108: 1065-1072.
18. TRONCY, E., FRANCOEUR, M. & BLAISE, G. Inhaled nitric oxide: how to deliver it? [Résumé] *Critical Care* 1998; 2: 56 [P115].
19. HESS, D., RITZ, R. & BRANSON, R. D. Delivery systems for inhaled nitric oxide. [Revue] [112 refs]. *Respiratory Care Clinics of North America* 1997; 3: 371-410.
20. IMANAKA, H., HESS, D., KIRMSE, M., BIGATELLO, L. M., KACMAREK, R. M., STEUDEL, W. & HURFORD, W. E. Inaccuracies of nitric oxide delivery systems during adult mechanical ventilation. *Anesthesiology* 1997; 86: 676-688.
21. FOUBERT, L. Theoretical problems and practical solutions

- for the delivery of inhaled nitric oxide. [Thèse]. 1995; pp. 1-133.
22. SYDOW, M., BRISTOW, F., ZINSERLING, J. & ALLEN, S. J. Variation of nitric oxide concentration during inspiration. *Critical Care Medicine* 1997; **25**: 365-371.
 23. MOURGEON, E., GALLART, L., UMAMAHESWARA RAO, G. S., LU, Q., LAW-KOUNE, J. D., PUYBASSET, L., CORIAT, P. & ROUBY, J. J. Distribution of inhaled nitric oxide during sequential and continuous administration into the inspiratory limb of the ventilator. *Intensive Care Medicine* 1997; **23**: 849-858.
 24. NATHORST-WESTFELT, U., LUNDIN, S. & STENQVIST, O. Nitric oxide administration after the ventilator: evaluation of mixing conditions. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1997; **41**: 266-273.
 25. YOUNG, J. D., ROBERTS, M. & GALE, L. B. Laboratory evaluation of the I-NOvent nitric oxide delivery device. *British Journal of Anaesthesia* 1997; **79**: 398-401.
 26. KACMAREK, R. M. The administration and measurement of nitric oxide during mechanical ventilation. Dans *Yearbook of intensive care and emergency medicine*. ed. VINCENT, J.-L. Berlin: Springer-Verlag. 1998; pp. 545-560.
 27. LINDBERG, L., RYDGREN, G., LARSSON, A., OLSSON, S. G. & NORDSTROM, L. A delivery system for inhalation of nitric oxide evaluated with chemiluminescence, electrochemical fuel cells, and capnography. *Critical Care Medicine* 1997; **25**: 190-196.
 28. O'HARE, B., BETT, P. & THOMPSON, J. In-vivo evaluation of a composite pediatric nitric oxide delivery monitoring system. [Résumé]. *Critical Care Medicine* 1997; **25**: A54.
 29. KIRMSE, M., HESS, D., FUJINO, Y., KACMAREK, R. M. & HURFORD, W. E. Delivery of inhaled nitric oxide using the Ohmeda I-NOvent delivery system. *Chest* 1998; (sous presse).
 30. TRONCY, E., COLLET, J. P., SHAPIRO, S., GUIMOND, J. G., BLAIR, L., CHARBONNEAU, M. & BLAISE, G. Should we treat acute respiratory distress syndrome with inhaled nitric oxide?. [Lettre]. *The Lancet* 1997; **350**: 111-112.
 31. LU, Q., MOURGEON, E., LAW-KOUNE, J. D., ROCHE, S., VEZINET, C., ABDENNOUR, L., VICAUT, E., PUY-

- BASSET, L., DIABY, M., CORIAT, P. & ET AL. Dose-response curves of inhaled nitric oxide with and without intravenous almitrine in nitric oxide-responding patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1995; **83**: 929-943.
32. PURTZ, E. P., HESS, D. & KACMAREK, R. M. Evaluation of electrochemical nitric oxide and nitrogen dioxide analyzers suitable for use during mechanical ventilation. *Journal of Clinical Monitoring* 1997; **13**: 25-34.
33. UMAMAHESWARA RAO, G. S., GALLART, L., LAW-KOUNE, J. D., LU, Q., PUYBASSET, L., CLUZEL, P., CORIAT, P. & ROUBY, J. J. Factors influencing the tracheal fluctuation of inhaled nitric oxide in patients with acute lung injury. *Anesthesiology* 1997; **87**: 823-834.
34. LINDBERG, L. & RYDGREN, G. Production of nitrogen dioxide in a delivery system for inhalation of nitric oxide - A new equation for calculation. *British Journal of Anaesthesia* 1998; **80**: 213-217.
35. WEIMANN, J., HAGENAH, J. U. & MOTSCH, J. Reduction in nitrogen dioxide concentration by soda lime preparations during simulated nitric oxide inhalation. *British Journal of Anaesthesia* 1997; **79**: 641-644.
36. GOLDMAN, A. P., COOK, P. D. & MACRAE, D. J. Exposure of intensive-care staff to nitric oxide and nitrogen dioxide. [Lettre]. *The Lancet* 1995; **345**: 923-924.
37. MOURGEON, E., LEVESQUE, E., DUVEAU, C., LAW-KOUNE, J. D., CHARBIT, B., TERNISSIEN, E., CORIAT, P. & ROUBY, J. J. Factors influencing indoor concentrations of nitric oxide in a Parisian intensive care unit. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; **156**: 1692-1695.
38. PINSKY, M. R., GENC, F., LEE, K. H. & DELGADO, E. Contamination of hospital compressed air with nitric oxide: unwitting replacement therapy. *Chest* 1997; **111**: 1759-1763.
39. LEE, K. H., TAN, P. S., RICO, P., DELGADO, E., KELLUM, J. A. & PINSKY, M. R. Low levels of nitric oxide as contaminant in hospital compressed air: physiologic significance? *Critical Care Medicine* 1997; **25**: 1143-1146.
40. FRAWLEY, J. P., CALANDRA, J. C., FREDRICK, W. G., HOOD, D. B., JACOBSON, K. H., KEPLINGER, M. L.,

- ROWE, V. K., STOKINGER, H. E., TORKELSON, T. R., TREON, J. F., WEIL, C. S. & WHITE, N. G. Emergency exposure limits - Statements of general principles - Nitrogen dioxide. *Industrial Hygiene Journal* 1964; 25: 578-582.
41. ENGLAND, C. & CORCORAN, W. Kinetics and mechanisms of the gas-phase reaction of water vapor and nitrogen dioxide. *Industrial Engineering Chemical Fundamentals* 1974; 13: 373-384.
42. WHITELEY, S. M., COHEN, A. T., LAYCOCK, D., ARROWSMITH, W. M. & HENRYS, P. D. Nitric oxide: description of a pipeline delivery system. *Anaesthesia* 1997; 52: 561-566.
43. SYDOW, M., ZINSERLING, J. & ALLEN, S. J. Inspiratory NO concentration fluctuation during inhalational NO administration. Dans *Yearbook of intensive care and emergency medicine* ed. VINCENT, J.-L. Berlin: Springer-Verlag. 1998; pp. 561-568.
44. FROSTELL, C., FRATACCI, M. D., WAIN, J. C., JONES, R. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991; 83: 2038-2047.
45. ROBERTS, J. D., JR., CHEN, T. Y., KAWAI, N., WAIN, J., DUPUY, P., SHIMOUCI, A., BLOCH, K., POLANER, D. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide reverses pulmonary vasoconstriction in the hypoxic and acidotic newborn lamb. *Circulation Research*. 1993; 72: 246-254.
46. DEMARCO, V., SKIMMING, J. W., ELLIS, T. M. & CASSIN, S. Nitric oxide inhalation: effects on the ovine neonatal pulmonary and systemic circulations. *Reproduction, Fertility, & Development* 1996; 8: 431-438.
47. DYAR, O., YOUNG, J. D., XIONG, L., HOWELL, S. & JOHNS, E. Dose-response relationship for inhaled nitric oxide in experimental pulmonary hypertension in sheep. *British Journal of Anaesthesia* 1993; 71: 702-708.
48. PISON, U., LOPEZ, F. A., HEIDELMEYER, C. F., ROSSAINT, R. & FALKE, K. J. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction without impairing gas exchange. *Journal of Applied Physiology*. 1993; 74: 1287-1292.
49. WELTE, M., ZWISSLER, B., HABAZETTL, H. & MESSMER, K. PGI₂ aerosol versus nitric oxide for selective pulmonary vasodilation in hypoxic

- pulmonary vasoconstriction. *European.Surgical.Research.* 1993; 25: 329-340.
50. CHANNICK, R. N., NEWHART, J. W., JOHNSON, F. W. & MOSER, K. M. Inhaled nitric oxide reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. A practical nitric oxide delivery and monitoring system. *Chest* 1994; 105: 1842-1847.
 51. ROMAND, J. A., PINSKY, M. R., FIRESTONE, L., ZAR, H. A. & LANCASTER, J. R.,JR. Inhaled nitric oxide partially reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction in the dog. *Journal.of.Applied.Physiology.* 1994; 76: 1350-1355.
 52. MAGGIORINI, M., BRIMIOULLE, S., DE CANNIERE, D., DELCROIX, M., WAUTHY, P. & NAEIJE, R. Pulmonary vascular impedance response to hypoxia in dogs and minipigs: effects of inhaled nitric oxide. *Journal.of.Applied.Physiology.* 1995; 79: 1156-1162.
 53. ZWISSLER, B., WELTE, M. & MESSMER, K. Effects of inhaled prostacyclin as compared with inhaled nitric oxide on right ventricular performance in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Journal.of.CardiThoracic.&.Vascular.Anesthesia.* 1995; 9: 283-289.
 54. ETCHES, P. C., FINER, N. N., BARRINGTON, K. J., GRAHAM, A. J. & CHAN, W. K. Nitric oxide reverses acute hypoxic pulmonary hypertension in the newborn piglet. *PediatricResearch.* 1994; 35: 15-19.
 55. JACOB, T. D., NAKAYAMA, D. K., SEKI, I., EXLER, R., LANCASTER, J. R.,JR., SWETLAND, M. A., YOUSEM, S., SIMMONS, R. L., BILLIAR, T. R., PEITZMAN, A. B. & ET AL. Hemodynamic effects and metabolic fate of inhaled nitric oxide in hypoxic piglets. *Journal.of.Applied.Physiology.* 1994; 76: 1794-1801.
 56. NELIN, L. D., MOSHIN, J., THOMAS, C. J., SASIDHARAN, P. & DAWSON, C. A. The effect of inhaled nitric oxide on the pulmonary circulation of the neonatal pig. *PediatricResearch.* 1994; 35: 20-24.
 57. EMIL, S., KOSI, M., BERKELAND, J., KANNO, S., NEWTH, C. & ATKINSON, J. Severity of hypoxia predicts response to nitric oxide in a porcine pulmonary hypertension model. *Journal.of.Pediatric.Surgery* 1995; 30: 930-935.
 58. SUSTRONCK, B., VANLOON, G., DEPREZ, P., MUYLLE, E., GASTHUYS, F. & FOUBERT, L. Effect of inhaled nitric oxide on the hypoxic pulm-

- onary vasoconstrictor response in anaesthetised calves. *Research in Veterinary Science* 1997; **63**: 193-197.
59. FROSTELL, C. G., BLOMQUIST, H., HEDENSTIERNA, G., LUNDBERG, J. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide selectively reverses human hypoxic pulmonary vasoconstriction without causing systemic vasodilation. *Anesthesiology* 1993; **78**: 427-435.
60. DODDS, W. J. The pig model for biomedical research. *Federation Proceedings* 1982; **41**: 247-256.
61. TRONCY, E., JACOB, E., DA SILVA, P., DUCRUET, T., COLLET, J. P., SALAZKIN, I., CHARBONNEAU, M. & BLAISE, G. Comparison of the effect of inhaled nitric oxide and intravenous nitroglycerine on hypoxia-induced pulmonary hypertension in pigs. *European Journal of Anaesthesiology*. 1996; **13**: 521-529.
62. FRATACCI, M. D., FROSTELL, C. G., CHEN, T. Y., WAIN, J. C., JR., ROBINSON, D. R. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide. A selective pulmonary vasodilator of heparin-protamine vasoconstriction in sheep. *Anesthesiology* 1991; **75**: 990-999.
63. RIMAR, S. & GILLIS, C. N. Pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide after endothelial injury. *Journal of Applied Physiology*. 1992; **73**: 2179-2183.
64. TONZ, M., VON SEGESSER, L. K., SCHILLING, J., LUSCHER, T. F., NOLL, G., LESKOSEK, B. & TURINA, M. I. Treatment of acute pulmonary hypertension with inhaled nitric oxide. *Annals of Thoracic Surgery* 1994; **58**: 1031-1035.
65. ICHINOSE, F., ADRIE, C., HURFORD, W. E. & ZAPOL, W. M. Prolonged pulmonary vasodilator action of inhaled nitric oxide by Zaprinas in awake lambs. *Journal of Applied Physiology*. 1995; **78**: 1288-1295.
66. TOD, M. L., O'DONNELL, D. C. & GORDON, J. B. Sites of inhaled NO-induced vasodilation during hypoxia and U-46619 infusion in isolated lamb lungs. *American Journal of Physiology*. 1995; **268**: H1422-H1427.
67. ZOBEL, G., DACAR, D., RODL, S. & FRIEHS, I. Inhaled nitric oxide versus inhaled prostacyclin and intravenous *versus* inhaled prostacyclin in acute respiratory failure with pulmonary hypertension in piglets. *Pediatric Research*. 1995; **38**: 198-204.

68. VAN OBBERGH, L. J., CHARBONNEAU, M. & BLAISE, G. Combination of inhaled nitric oxide with i.v. nitroglycerin or with a prostacyclin analogue in the treatment of experimental pulmonary hypertension. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 227-231.
69. TRUOG, W. E., NORBERG, M. & THIBEAULT, D. W. Effects of 8-epi-prostaglandin F2 alpha and U46,619 on pulmonary hemodynamics in piglets. *Biology of the Neonate* 1997; 71: 306-316.
70. WALMRATH, D., SCHERMULLY, R., PILCH, J., GRIMMINGER, F. & SEEGER, W. Effects of inhaled *versus* intravenous vasodilators in experimental pulmonary hypertension. *European Respiratory Journal* 1997; 10: 1084-1092.
71. ZOBEL, G., URLESBERGER, B., DACAR, D., RODL, S., REITERER, F. & FRIEHS, I. Partial liquid ventilation combined with inhaled nitric oxide in acute respiratory failure with pulmonary hypertension in piglets. *Pediatric Research* 1997; 41: 172-177.
72. ICHINOSE, F., ADRIE, C., HURFORD, W. E., BLOCH, K. D. & ZAPOL, W. M. Selective pulmonary vasodilation induced by aerosolized zaprinast. *Anesthesiology* 1998; 88: 410-416.
73. KATAYAMA, Y., HATANAKA, K., HAYASHI, T., ONODA, K., YADA, I., NAMIKAWA, S., YUASA, H., KUSAGAWA, M., MARUYAMA, K. & KITABATAKE, M. Effects of inhaled nitric oxide in rats with chemically induced pulmonary hypertension. *Respiration Physiology* 1994; 97: 301-307.
74. KATAYAMA, Y., HATANAKA, K., HAYASHI, T., ONODA, K., NAMIKAWA, S., YUASA, H., YADA, I., MARUYAMA, K., KITABATAKE, M. & KUSAGAWA, M. Effects of inhaled nitric oxide in single lung transplantation in rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Journal of Heart & Lung Transplantation* 1995; 14: 486-492.
75. CHEN, E. P., BITTNER, H. B., TULL, F., CRAIG, D., DAVIS, R. D. & VAN TRIGT, P. Nitric oxide improves pulmonary vascular impedance, transpulmonary efficiency, and left ventricular filling in chronic pulmonary hypertension. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1997; 113: 849-857.
76. MARUYAMA, J., MARUYAMA, K., MITANI, Y., KITABATAKE, M., YAMAUCHI, T. & MIYASAKA, K. Continuous

- low-dose NO inhalation does not prevent monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *American Journal of Physiology*. 1997; 272: H517-H524.
77. ROOS, C. M., RICH, G. F., UNCLES, D. R., DAUGHERTY, M. O. & FRANK, D. U. Sites of vasodilation by inhaled nitric oxide vs. sodium nitroprusside in endothelin-constricted isolated rat lungs. *Journal of Applied Physiology*. 1994; 77: 51-57.
78. ALBERTINI, M. & CLEMENT, M. G. In pigs, inhaled nitric oxide (NO) counterbalances PAF-induced pulmonary hypertension. *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*. 1994; 51: 357-362.
79. YAMADA, T., YUKIOKA, H., HAYASHI, M., ASADA, A. & INOUE, M. Effects of inhaled nitric oxide on platelet-activating factor-induced pulmonary hypertension in dogs. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1998; 42: 358-368.
80. SUSTRONCK, B., VANLOON, G., FOUBERT, L., DEPREZ, P. & MUYLLE, E. Effect of the inhalation of nitric oxide on 5-hydroxytryptamine-induced pulmonary hypertension in calves. *Journal of Veterinary Medicine* 1996; 43: 513-520.
81. KOIZUMI, T., HERMO, C. I., BJERTNAES, L. J., BANERJEE, M., NEWMAN, J. H. & KUBO, K. Nitric oxide and nitroglycerin reversal of pulmonary vasoconstriction induced by alpha-activation during exercise. *American Journal of Physiology*. 1996; 270: H875-H880.
82. TRONCY, E., FRANCOEUR, M., SALAZKIN, I., YANG, F., CHARBONNEAU, M., LEClerc, G., VINAY, P. & BLAISE, G. Extra-pulmonary effects of inhaled nitric oxide in swine with and without phenylephrine. *British Journal of Anaesthesia* 1997; 79: 631-640.
83. PERSSON, M. G., KALZEN, H. & GUSTAFSSON, L. E. Oxygen or low concentrations of nitric oxide reverse pulmonary vasoconstriction induced by nitric oxide synthesis inhibition in rabbits. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1994; 150: 405-411.
84. IBLA, J. C., ARNOLD, J. H., THOMPSON, J. E., BREUER, C. K., BENJAMIN, P. K. & LILLEHEI, C. W. Effects of nitric oxide on hyperinflation-induced pulmonary hypertension in the isolated-perfused lung. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 1388-1395.
85. ZWISSLER, B., WELTE, M., HABLER, O., KLEEN, M. & MESSMER, K. Effects of inh-

- aled prostacyclin as compared with inhaled nitric oxide in a canine model of pulmonary microembolism and oleic acid edema. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia*. 1995; 9: 634-640.
86. BOTTIGER, B. W., MOTSCH, J., DORSAM, J., MIECK, U., GRIES, A., WEIMANN, J. & MARTIN, E. Inhaled nitric oxide selectively decreases pulmonary artery pressure and pulmonary vascular resistance following acute massive pulmonary microembolism in piglets. *Chest* 1996; 110: 1041-1047.
87. GIRARD, C., FARGNOLI, J. M., GODIN-RIBUOT, D., DUTHEIL, V., MAITRASSE, B., GIRARDET, P. & ARVIEUX, C. C. Inhaled nitric oxide: effects on hemodynamics, myocardial contractility, and regional blood flow in dogs with mechanically induced pulmonary artery hypertension. *Journal of Heart & Lung Transplantation* 1996; 15: 700-708.
88. GRIES, A., BOTTIGER, B. W., DORSAM, J., BAUER, H., WEIMANN, J., BODE, C., MARTIN, E. & MOTSCH, J. Inhaled nitric oxide inhibits platelet aggregation after pulmonary embolism in pigs. *Anesthesiology* 1997; 86: 387-393.
89. MÉLOT, C., VERMEULEN, F., MAGGIORINI, M., GILBERT, E. & NAEIJE, R. Site of pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide in microembolic lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 156: 75-85.
90. KINSELLA, J. P., IVY, D. D. & ABMAN, S. H. Inhaled nitric oxide improves gas exchange and lowers pulmonary vascular resistance in severe experimental hyaline membrane disease. *Pediatric Research*. 1994; 36: 402-408.
91. THUSU, K. G., MORIN, F. C., 3RD, RUSSELL, J. A. & STEINHORN, R. H. The cGMP phosphodiesterase inhibitor zaprinast enhances the effect of nitric oxide. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 152: 1605-1610.
92. WILCOX, D. T., GLICK, P. L., KARAMANOUKIAN, H. L., LEACH, C., MORIN, F. C., 3RD & FUHRMAN, B. P. Perfluorocarbon-associated gas exchange improves pulmonary mechanics, oxygenation, ventilation, and allows nitric oxide delivery in the hypoplastic lung congenital diaphragmatic hernia lamb model. *Critical Care Medicine* 1995; 23: 1858-1863.

93. MOTSCH, J., WEIMANN, J., EHEHALT, R., BOTTIGER, B. W., JAKOB, H., SCHNABEL, P. A., GEBHARD, M. M. & MARTIN, E. Different effect of inhaled nitric oxide on yucatan micropig with and without congenital ventricular septal defect. *Journal of Experimental Animal Science* 1996; **38**: 28-44.
94. WEITZBERG, E., RUDEHILL, A., ALVING, K. & LUNDBERG, J. M. Nitric oxide inhalation selectively attenuates pulmonary hypertension and arterial hypoxia in porcine endotoxin shock. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1991; **143**: 451-452.
95. WEITZBERG, E., RUDEHILL, A. & LUNDBERG, J. M. Nitric oxide inhalation attenuates pulmonary hypertension and improves gas exchange in endotoxin shock. *European Journal of Pharmacology* 1993; **233**: 85-94.
96. DAHM, P., BLOMQUIST, S., MARTENSSON, L., THORNE, J. & ZOUCAS, E. Circulatory and ventilatory effects of intermittent nitric oxide inhalation during porcine endotoxemia. *Journal of Trauma*. 1994; **37**: 769-777.
97. OGURA, H., CIOFFI, W. G., OFFNER, P. J., JORDAN, B. S., JOHNSON, A. A. & PRUITT, B. A., JR. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary function after sepsis in a swine model. *Surgery* 1994; **116**: 313-321.
98. OFFNER, P. J., OGURA, H., JORDAN, B. S., PRUITT, B. A., JR. & CIOFFI, W. G. Effects of inhaled nitric oxide on right ventricular function in endotoxin shock. *Journal of Trauma*. 1995; **39**: 179-185.
99. BERGER, J. I., GIBSON, R. L., REDDING, G. J., STANDART, T. A., CLARKE, W. R. & TRUOG, W. E. Effect of inhaled nitric oxide during group B streptococcal sepsis in piglets. *American Review of Respiratory Disease*. 1993; **147**: 1080-1086.
100. FUKAHARA, K., MURAKAMI, A., WATANABE, G., KOTOH, K. & MISAKI, T. Inhaled nitric oxide after lung ischemia reperfusion; effect on hemodynamics and oxygen free radical scavenger system. *European Journal of Cardio Thoracic Surgery* 1997; **11**: 343-349.
101. KAVANAGH, B. P., MOUCHAWAR, A., GOLDSMITH, J. & PEARL, R. G. Effects of inhaled NO and inhibition of endogenous NO synthesis in oxidant-induced acute lung injury. *Journal of Applied Physiology*. 1994; **76**: 1324-1329.

102. OGURA, H., CIOFFI, W. G., JR., JORDAN, B. S., OKERBERG, C. V., JOHNSON, A. A., MASON, A. D., JR. & PRUITT, B. A., JR. The effect of inhaled nitric oxide on smoke inhalation injury in an ovine model. *Journal of Trauma*. 1994; 37: 294-301.
103. BOOKE, M., BRADFORD, D. W., HINDER, F., NISHIDA, K., BIONDO, N. A., TRABER, L. D. & TRABER, D. L. Inhaled nitric oxide selectively reduces pulmonary hypertension after ovine smoke inhalation but does not improve oxygenation. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*. 1997; 18: 27-33.
104. BARRINGTON, K. J., FINER, N. N., PELIOWSKI, A., ETCHES, P. C., GRAHAM, A. J. & CHAN, W. K. Inhaled nitric oxide improves oxygenation in piglets with meconium aspiration. *Pediatric Pulmonology*. 1995; 20: 27-33.
105. CUESTA, E. G., DIAZ, F. J. A., RENEDO, A. A., RUANOVA, B. F., GOYA, J. L. D. Y., SANCHEZ, L. F. A. & SOLER, A. V. I. Transient response to inhaled nitric oxide in meconium aspiration in newborn lambs. *Pediatric Research*. 1998; 43: 198-202.
106. ROVIRA, I., CHEN, T. Y., WINKLER, M., KAWAI, N., BLOCH, K. D. & ZAPOL, W. M. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics and gas exchange in an ovine model of ARDS. *Journal of Applied Physiology*. 1994; 76: 345-355.
107. HILLMAN, N. D., MELIONES, J. N., BLACK, D. R., CRAIG, D. M., CHEIFETZ, I. M. & SMITH, P. K. In acute lung injury, inhaled nitric oxide improves ventilation-perfusion matching, pulmonary vascular mechanics, and transpulmonary vascular efficiency. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*. 1995; 110: 593-599.
108. CHEIFETZ, I. M., CRAIG, D. M., KERN, F. H., BLACK, D. R., HILLMAN, N. D., GREELEY, W. J., UNGERLEIDER, R. M., SMITH, P. K. & MELIONES, J. N. Nitric oxide improves transpulmonary vascular mechanics but does not change intrinsic right ventricular contractility in an acute respiratory distress syndrome model with permissive hypercapnia. *Critical*

- Care Medicine* 1996; 24: 1554-1561.
109. KOBAYASHI, H., TANAKA, N., WINKLER, M. & ZAPOL, W. M. Combined effects of NO inhalation and intravenous PGF2 alpha on pulmonary circulation and gas exchange in an ovine ARDS model. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: 656-663.
110. HOUMES, R. J., HARTOG, A., VERBRUGGE, S. J., BOHM, S. & LACHMANN, B. Combining partial liquid ventilation with nitric oxide to improve gas exchange in acute lung injury. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 163-169.
111. PUTENSEN, C., RASANEN, J. & DOWNS, J. B. Effect of endogenous and inhaled nitric oxide on the ventilation-perfusion relationships in oleic-acid lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 150: 330-336.
112. PUTENSEN, C., RASANEN, J., LOPEZ, F. A. & DOWNS, J. B. Continuous positive airway pressure modulates effect of inhaled nitric oxide on the ventilation-perfusion distributions in canine lung injury. *Chest* 1994; 106: 1563-1569.
113. ROMAND, J. A., PINSKY, M. R., FIRESTONE, L., ZAR, H. A. & LANCASTER, J. R., JR. Effect of inhaled nitric oxide on pulmonary hemodynamics after acute lung injury in dogs. *Journal of Applied Physiology*. 1994; 76: 1356-1362.
114. GERMANN, P., BALASSA, A., ROEDER, G., KAIDER, A., SCHLAG, G., ZIMPFER, M. & SLADEN, R. Effects of inhaled nitric oxide and extracorporeal membrane oxygenation on pulmonary hemodynamics and lymph flow in oleic acid lung injury in sheep. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 1881-1887.
115. SHAH, N. S., NAKAYAMA, D. K., JACOB, T. D., NISHIO, I., IMAI, T., BILLIAR, T. R., EXLER, R., YOUSEM, S. A., MOTOYAMA, E. K. & PEITZMAN, A. B. Efficacy of inhaled nitric oxide in a porcine model of adult respiratory distress syndrome. *Archives of Surgery* 1994; 129: 158-164.
- 1
116. SHAH, N. S., NAKAYAMA, D. K., JACOB, T. D., NISHIO, I., IMAI, T., BILLIAR, T. R., EXLER, R., YOUSEM, S. A., MOTOYAMA, E. K. &

- PEITZMAN, A. B. Efficacy of inhaled nitric oxide in oleic acid-induced acute lung injury. *Critical Care Medicine* 1997; **25**: 153-158.
117. RIMAR, S. & GILLIS, N. Selective pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation. *Circulation* 1993; **88**: 2884-2887.
118. GALINIER, M., ROUGE, P., FOURCADE, J., SENARD, J. M., ALBENQUE, J. P., BALANESCU, S., DOAZAN, J. P., MONTASTRUC, J. L., BOUNHOURE, J. P. & MONTASTRUC, P. Lack of haemodynamic effects of nitric oxide on post-capillary pulmonary hypertension induced by acute sino-aortic denervation. *British Journal of Pharmacology* 1997; **120**: 7-12.
119. QUEZADO, Z. M. N., NATANSON, C., KARZAI, W., DANNER, R. L., KOEV, C. A., FITZ, Y., DOLAN, D. P., RICHMOND, S., BANKS, S. M., WILSON, L. & EICHACKER, P. Q. Cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in normal dogs and during E-coli pneumonia and sepsis. *Journal of Applied Physiology* 1998; **84**: 107-115.
120. GERLACH, H., ROSSAINT, R., PAPPERT, D. & FALKE, K. J. Time-course and dose-response of nitric oxide inhalation for systemic oxygenation and pulmonary hypertension in patients with adult respiratory distress syndrome. *European Journal of Clinical Investigation* 1993; **23**: 499-502.
121. HORSTMAN, D. J., FRANK, D. U. & RICH, G. F. Prolonged inhaled NO attenuates hypoxic, but not monocrotaline-induced, pulmonary vascular remodeling in rats. *Anesthesia & Analgesia* 1998; **86**: 74-81.
122. PUYBASSET, L., ROUBY, J. J., MOURGEON, E., STEWART, T. E., CLUZEL, P., ARTHAUD, M., POETE, P., BODIN, L., KORINEK, A. M. & VIARS, P. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure: dose-response curves. *Intensive Care Medicine* 1994; **20**: 319-327.
123. RIBEIRO, J. M. C., HAZZARD, J. M. H., NUSSENZVEIG, R. H., CHAMPAGNE, D. E. & WALKER, F. A. Reversible binding of nitric oxide by a salivary heme protein from a blood-sucking insect. *Science* 1993; **260**: 539-541.

124. JIA, L., BONAVENTURA, C., BONAVENTURA, J. & STAMLER, J. S. S-nitrosohaemoglobin - A dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996; **380**: 221-226.
125. PELLAT, C., HENRY, Y. & DRAPIER, J. C. IFN-gamma-activated macrophages: detection by electron paramagnetic resonance of complexes between L-arginine-derived nitric oxide and non-heme iron proteins. *Biochemical. & Biophysical. Research. Communications.* 1990; **166**: 119-125.
126. VANIN, A. F. Endothelium-derived relaxing factor is a nitrosyl iron complex with thiol ligands. *FEBS Letters.* 1991; **289**: 1-3.
127. MÜLSCH, A., MORDVINTCEV, P., VANIN, A. F. & BUSSE, R. The potent vasodilating and guanylyl cyclase activating dinitrosyl-iron(II) complex is stored in a protein-bound form in vascular tissue and is released by thiols. *FEBS Letters.* 1991; **294**: 252-256.
128. MYERS, P. R., MINOR, R. L. JR., GUERRA, R. JR., BATES, J. N. & HARRISON, D. G. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990; **345**: 161-163.
129. BATES, J. N., HARRISON, D. G., MYERS, P. R. & MINOR, R. L. EDRF: nitrosylated compound or authentic nitric oxide. *Basic. Research. in Cardiology* 1991; **86** (Suppl.2): 17-26.
130. GASTON, B., REILLY, J., DRAZEN, J. M., FACKLER, J., RAMDEV, P., ARNELLE, D., MULLINS, M. E., SUGARBAKER, D. J., CHEE, C., SINGEL, D. J., LOSCALZO, J. & STAMLER, J. S. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proceedings. of. the. National. Academy. of. Sciences. of. the. United. States. of. America.* 1993; **90**: 10957-10961.
131. STAMLER, J. S., SIMON, D. I., OSBORNE, J. A., MULLINS, M. E., JARAKI, O., MICHEL, T., SINGEL, D. J. & LOSCALZO, J. S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proceedings. of. the. National. Academy. of. Sciences. of. the. United. States. of. America.* 1992; **89**: 444-448.

132. STAMLER, J. S., JARAKI, O., OSBORNE, J., SIMON, D. I., KEANEY, J., VITA, J., SINGEL, D., VALERI, C. R. & LOSCALZO, J. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992; **89**: 7674-7677.
133. KEANEY, J. F., JR., SIMON, D. I., STAMLER, J. S., JARAKI, O., SCHARFSTEIN, J., VITA, J. A. & LOSCALZO, J. NO forms an adduct with serum albumin that has endothelium-derived relaxing factor-like properties. *Journal of Clinical Investigation*. 1993; **91**: 1582-1589.
134. THOMAS, G. & RAMWELL, P. W. Vascular relaxation mediated by hydroxylamines and oximes: their conversion to nitrites and mechanism of endothelium dependent vascular relaxation. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 1989; **164**: 889-893.
135. FUKUTO, J. M., HSZIEH, R., GULATI, P., CHIANG, K. T. & NAGASAWA, H. T. N,O-diacylated-N-hydroxyarylsulfonamides: nitroxyl precursors with potent smooth muscle relaxant properties. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 1992; **187**: 1367-1373.
136. STAMLER, J. S., SINGEL, D. J. & LOSCALZO, J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. [Review] [66 refs]. *Science* 1992; **258**: 1898-1902.
137. BONNER, F. T. & HUGHES, M. N. No lack of NO activity. [Lettre]. *Science* 1993; **260**: 145-146.
138. LIPTON, S. A., CHOI, Y. B., PAN, Z. H., LEI, S. Z., CHEN, H. S., SUCHER, N. J., LOSCALZO, J., SINGEL, D. J. & STAMLER, J. S. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature* 1993; **364**: 626-632.
139. WINK, D. A., NIMS, R. W., DARBYSHIRE, J. F., CHRISTODOULOU, D., HANBAUER, I., COX, G. W., LAVAL, F., LAVAL, J., COOK, J. A., KRISHNA, M. C., DEGRAFF, W. G. & MITCHELL, J. B. Reaction kinetics for nitrosation of cysteine and glutathione in aerobic nitric oxide solutions at

- neutral pH - Insights into the fate and physiological effects of intermediates generated in the NO/O₂⁻ reaction. *Chemical Research in Toxicology* 1994; 7: 519-525.
140. JOCELYN, P. C. Thiols and disulfides in blood. Dans *Biochemistry of the SH group*, ed. JOCELYN, P. C. London: Academic Press Limited. 1972; pp. 240-260.
141. LANCASTER, J. R., JR. Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994; 91: 8137-8141.
142. GOW, A. J. & STAMLER, J. S. Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. *Nature* 1998; 391: 169-173.
143. STAMLER, J. S., JIA, L., EU, J. P., MCMAHON, T. J., DEMCHENKO, I. T., BONAVENTURA, J., GERNERT, K. & PIANTADOSI, C. A. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997; 276: 2034-2037.
144. SCHARFSTEIN, J. S., KEANEY, J. F., SLIVKA, A., WELCH, G. N., VITA, J. A., STAMLER, J. S. & LOSCALZO, J. *In vivo* transfer of nitric oxide between a plasma protein-bound reservoir and low molecular weight thiols. *Journal of Clinical Investigation* 1994; 94: 1432-1439.
145. MÜLSCH, A. Nitrogen monoxide transport mechanisms. *Arzneimittel-Forschung* 1994; 44: 408-411.
146. BOESE, M., MORDVINCEV, P. I., VANIN, A. F., BUSSE, R. & MÜLSCH, A. S-nitrosation of serum albumine by dinitrosyl-iron complex. *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270: 29244-29249.
147. STAMLER, J. S. S-nitrosothiols and the bioregulatory actions of nitrogen oxides through reactions with thiol groups. [Revue] [92 refs]. *Current Topics in Microbiology & Immunology* 1995; 196: 19-36.
148. GOW, A. J., BUERK, D. G. & ISCHIROPOULOS, H. A novel reaction mechanism for the formation of S-nitrosothiol in

- in vivo*. *Journal of Biological Chemistry*. 1997; 272: 2841-2845.
149. SINGH, R. J., HOGG, N., JOSEPH, J. & KALYANARAMAN, B. Mechanism of nitric oxide release from S-nitrosothiols. *Journal of Biological Chemistry*. 1996; 271: 18596-18603.
150. LIU, Z. G., RUDD, M. A., FREEDMAN, J. E. & LOSCALZO, J. S-transnitrosation reactions are involved in the metabolic fate and biological actions of nitric oxide. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*. 1998; 284: 526-534.
151. CREAGER, M. A., RODDY, M. A., BOLES, K. & STAMLER, J. S. N-acetylcysteine does not influence the activity of Endothelium-derived Relaxing Factor *in vivo*. *Hypertension* 1997; 29: 668-672.
152. MÜLSCH, A., MORDVINTCEV, P. I., VANIN, A. F. & BUSSE, R. Formation and release of dinitrosyl iron complexes by endothelial cells. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 1993; 196: 1303-1308.
153. PAWLOSKI, J. R., SWAMINATHAN, R. V. & STAMLER, J. S. Cell-free and erythrocytic S-nitrosohemoglobin inhibits human platelet aggregation. *Circulation* 1998; 97: 263-267.
154. KESHIVE, M., SINGH, S., WISHNOK, J. S., TANNENBAUM, S. R. & DEEN, W. M. Kinetics of S-nitrosation of thiols in nitric oxide solutions. *Chemical Research in Toxicology* 1996; 9: 988-993.
155. GABOR, G., ALLON, N. & WEETALL, H. H. Are thiols the carrier of nitric oxide in biological systems - A kinetic model. *Microchemical Journal*. 1997; 56: 177-187.
156. DICKS, A. P., SWIFT, H. R., WILLIAMS, D. L. H., BUTLER, A. R., ALSADONI, H. H. & COX, B. G. Identification of Cu⁺ as the effective reagent in nitric oxide formation from S-nitrosothiols (R-SNO). *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions II*. 1996; 481-487.
157. BELOSO, P. H. & WILLIAMS, D. L. H. Reversibility of S-nitrosothiol formation. *Chemical Communications*. 1997; 89-90.

158. LINCOLN, T. M. & CORNWELL, T. L. Intracellular cyclic GMP receptor proteins. *FASEB Journal* 1993; 7: 328-338.
159. LINCOLN, T. M., KOMALAVILAS, P. & CORNWELL, T. L. Pleiotropic regulation of vascular smooth muscle tone by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Hypertension* 1994; 23: 1141-1147.
160. MICHEL, J. B. Role of endothelial nitric oxide in the regulation of the vasomotor system. [Revue] [77 refs] [Français]. *Pathologie & Biologie* 1998; 46: 181-189.
161. KAMOSINSKA, B., RADOMSKI, M. W., DUSZYK, M., RADOMSKI, A. & MAN, S. F. P. Nitric oxide activates chloride currents in human lung epithelial cells. *American Journal of Physiology* 1997; 272: L1098-L1104.
162. MICHELAKIS, E. D., REEVE, H. L., HUANG, J. M., TOLAROVA, S., NELSON, D. P., WEIR, E. K. & ARCHER S.L. Potassium channel diversity in vascular smooth muscle cells. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology*. 1997; 75: 889-897.
163. WEISBROD, R. M., GRISWOLD, M. C., YAGHOUBI, M., KOMALAVILAS, P., LINCOLN, T. M. & COHEN, R. A. Evidence that additional mechanisms to cyclic GMP mediate the decrease in intracellular calcium and relaxation of rabbit aortic smooth muscle to nitric oxide. *British Journal of Pharmacology* 1998; 125: 1695-1707.
164. BECKMAN, J. S., CHEN, J., ISCHIRIPOULOS, H. & CROW, J. P. Oxidative chemistry of peroxynitrite. *Methods in Enzymology* 1994; 233: 229-240.
165. FAVRE, C. J., UFRET-VINCENTY, C. A. STONE, M. R., MA, H. T. & GILL, D. L. Ca^{2+} pool emptying stimulates Ca^{2+} entry activated by S-nitrosylation. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273: 30855-30858.
166. ABDERRAHMANE, A., SALVAIL, D., DUMOULIN, M., GARON, J., CADIEUX, A. & ROUSSEAU, E. Direct activation of K_{Ca} channel in airway smooth muscle by nitric oxide: involvement of a nitrothiosylation mechanism? *American Journal of Respiratory & Cellular Molecular Biology*. 1998; 19: 485-497.

167. KOBZIK, L., REID, M. B., BREDT, D. S. & STAMLER, J. S. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature* 1994; 372: 546-548.
168. GROSS, W. L., BAK, M. I., INGWALL, J. S., ARSTALL, M. A., SMITH, T. W., BALLIGAND, J. L. & KELLY, R. A. Nitric oxide inhibits creatinine kinase and regulates rat heart contractile reserve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996; 93: 5604-5609.
169. HÖGMAN, M., FROSTELL, C., ARNBERG, H., SANDHAGEN, B. & HEDENSTIERNA, G. Prolonged bleeding time during nitric oxide inhalation in the rabbit. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1994; 151: 125-129.
170. RADOMSKI, M. W., PALMER, R. M. & MONCADA, S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *The Lancet* 1987; 2: 1057-1058.
171. MONCADA, S., PALMER, R. M. & HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. [Review] [404 refs]. *Pharmacological Reviews*. 1991; 43: 109-142.
172. LOSCALZO, J. Antiplatelet and antithrombotic effects of organic nitrates. [Review] [47 refs]. *American Journal of Cardiology* 1992; 70: 18B-22B.
173. ALBERT, J., WALLEN, N. H., BROIJERSEN, A., FROSTELL, C. & HJEMDAHL, P. Effects of inhaled nitric oxide compared with aspirin on platelet function *in vivo* in healthy subjects. *Clinical Science* 1996; 91: 225-231.
174. RADOMSKI, M. W. & MONCADA, S. The biological and pharmacological role of nitric oxide in platelet function. [Review] [99 refs]. *Advances in Experimental Medicine & Biology*. 1993; 344: 251-264.
175. MICHELSON, A. D., BENOIT, S. E., FURMAN, M. I., BRECKWOLDT, W. L., ROHRER, M. J., BARNARD, M. R. & LOSCALZO, J. Effects of nitric oxide/EDRF on platelet surface glycoproteins. *American Journal of Physiology*. 1996; 270: H1640-H1648.
176. PHILLIPS, D. R., CHARO, I.

- F., PARISE, L. V. & FITZGERALD, L. A. The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. [Revue] [135 refs]. *Blood* 1988; 71: 831-843.
177. HÖGMAN, M., FROSTELL, C., ARNBERG, H. & HEDENSTIERNA, G. Bleeding time prolongation and NO inhalation. [Lettre]. *The Lancet* 1993; 341: 1664-1665.
178. GRIES, A., MOTSCH, J., PENK, S., BAUER, H., WEIMANN, J. & MARTIN, E. Sex-dependent differences in bleeding time prolongation under inhaled nitric oxide. [Résumé]. *British Journal of Anaesthesia* 1995; 74: 407.
179. NONG, Z., HOYLAERTS, M., VAN PELT, N., COLLEN, D. & JANSSENS, S. Nitric oxide inhalation inhibits platelet aggregation and platelet-mediated pulmonary thrombosis in rats. *Circulation Research* 1997; 81: 865-869.
180. SAMAMA, C. M., DIABY, M., FELLAHI, J. L., MDHAFAR, A., EYRAUD, D., AROCK, M., GUILLOSSON, J. J., CORIAT, P. & ROUBY, J. J. Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1995; 83: 56-65.
181. KREJCY, K., SCHMETTERER, L., KASTNER, J., NIESZPAURLOS, M., MONITZER, B., SCHUTZ, W., EICHLER, H. G. & KYRLE, P. A. Role of nitric oxide in hemostatic system activation *in vivo* in humans. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 1995; 15: 2063-2067.
182. GORDGE, M. P., HOTHERSALL, J. S. & NORONHADUTRA, A. A. Evidence for a cyclic GMP-independent mechanism in the anti-platelet action of S-nitrosoglutathione. *British Journal of Pharmacology* 1998; 124: 141-148.
183. LEE, J. S., ADRIE, C., JACOB, H. J., ROBERTS, J. D., JR., ZAPOL, W. M. & BLOCH, K. D. Chronic inhalation of nitric oxide inhibits neointimal formation after balloon-induced arterial injury. *Circulation Research* 1996; 78: 337-342.
184. ADRIE, C., BLOCH, K. D., MORENO, P. R., HURFORD, W. E., GUERRERO, J. L., HOLT, R., ZAPOL, W. M., GOLD, H. K. & SEMIGRAN,

- M. J. Inhaled nitric oxide increases coronary artery patency after thrombolysis. *Circulation* 1996; 94: 1919-1926.
185. MALMROS, C., BLOMQUIST, S., DAHM, P., MARTESSON, L. & THORNE, J. Nitric oxide inhalation decreases pulmonary platelet and neutrophil sequestration during extracorporeal circulation in the pig. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 845-849.
186. KINSELLA, J. P., PARKER, T. A., GALAN, H., SHERIDAN, B. C., HALBOWER, A. C. & ABMAN, S. H. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary edema and lung neutrophil accumulation in severe experimental hyaline membrane disease. *Pediatric Research*. 1997; 41: 457-63.
187. BLOOMFIELD, G. L., SWEENEY, L. B., FISHER, B. J., BLOCHER, C. R., SHOLLEY, M. M., SUGERMAN, H. J. & FOWLER, A. A.,^{3RD}. Delayed administration of inhaled nitric oxide preserves alveolar-capillary membrane integrity in porcine gram-negative sepsis. *Archives of Surgery* 1997; 132: 65-75.
188. KUBES, P., KUROSE, I. & GRANGER, D. N. NO donors prevent integrin-induced leukocyte adhesion but not P-selectin-dependent rolling in postischemic venules. *American Journal of Physiology*. 1994; 267: H931-H937.
189. CLANCY, R. M., LESZCZYNSKA-PIZIAK, J. & ABRAMSON, S. B. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *Journal of Clinical Investigation*. 1992; 90: 1116-1121.
190. GESSLER, P., NEBE, T., BIRLE, A., MUELLER, W. & KACHEL, W. A new side effect of inhaled nitric oxide in neonates and infants with pulmonary hypertension: functional impairment of the neutrophil respiratory burst. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: 252-258.
191. FOX-ROBICHAUD, A., PAYNE, D., HASAN, S. U., OSTROVSKY, L., FAIRHEAD, T., REINHARDT, P. & KUBES, P. Inhaled NO as a viable anti-adhesive therapy for ischemia/reperfusion injury of distal microvascular beds. *Journal of Clinical Investigation*. 1998; 101: 2497-2505.

192. CHOLLET-MARTIN, S., GATECEL, C., KERMARREC, N., GOUGEROT-POCIDALLO, M. A. & PAYEN, D. M. Alveolar neutrophil functions and cytokine levels in patients with the adult respiratory distress syndrome during nitric oxide inhalation. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; 153: 985-990.
193. UCHIDA, T., ICHIKAWA, K., YOKOYAMA, K., MITAKA, C., TOYOOKA, H. & AMAHA, K. Inhaled nitric oxide improved the outcome of severe right ventricular failure caused by lipopolysaccharide administration. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: 1203-1206.
194. KELLY, R. A., BALLIGAND, J. L. & SMITH, T. W. Nitric oxide and cardiac function. [Review] [232 refs]. *Circulation Research* 1996; 79: 363-380.
195. CHEN, E. P., BITTNER, H. B., DAVIS, R. D. & VAN TRIGT, P. Hemodynamic and inotropic effects of nitric oxide in pulmonary hypertension. *Journal of Surgical Research* 1997; 69: 288-294.
196. GOLDSTEIN, D. J., DEAN, D. A., SMERLING, A., OZ, M. C., BURKHOFF, D. & DICKSTEIN, M. L. Inhaled nitric oxide is not a negative inotropic agent in a porcine model of pulmonary hypertension. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1997; 114: 461-466.
197. HAYWARD, C. S., KALNINS, W. V., ROGERS, P., FENELEY, M. P., MACDONALD, P. S. & KELLY, R. P. Effect of inhaled nitric oxide on normal human left ventricular function. *Journal of the American College of Cardiology* 1997; 30: 49-56.
198. TRONCY, E., FRANCOEUR, M., SALAZKIN, I., VINAY, P. & BLAISE, G. Systemic effect of inhaled nitric oxide: modification of renal hemodynamics in pigs. Dans *The biology of nitric oxide - Part 5*, eds. MONCADA, S., STAMLER, J., GROSS, S. & HIGGS, E. A. London: Portland Press. 1996; p. 319.
199. EPPINGER, M. J., WARD, P. A., JONES, M. L., BOLLING, S. F. & DEEB, G. M. Disparate effects of nitric oxide on lung ischemia-reperfusion injury. *Annals of Thoracic Surgery* 1995; 60: 1169-1175.

200. CHANG, J., RAO, N. V., MARKEWITZ, B. A., HOIDAL, J. R. & MICHAEL, J. R. Nitric oxide donor prevents hydrogen peroxide-mediated endothelial cell injury. *American Journal of Physiology*. 1996; 270: L931-L940.
201. GUPTA, M. P., EVANOFF, V. & HART, C. M. Nitric oxide attenuates hydrogen peroxide-mediated injury to porcine pulmonary artery endothelial cells. *American Journal of Physiology*. 1997; 272: L1133-L1141.
202. BACHA, E. A., HERVE, P., MURAKAMI, S., CHAPELIER, A., MAZMANIAN, G. M., DE MONTPREVILLE, V., DETRUIT, H., LIBERT, J. M. & DARTEVELLE, P. Lasting beneficial effect of short-term inhaled nitric oxide on graft function after lung transplantation. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1996; 112: 590-598.
203. BHABRA, M. S., HOPKINSON, D. N., SHAW, T. E. & HOOPER, T. L. Low-dose nitric oxide inhalation during initial reperfusion enhances rat lung graft function. *Annals of Thoracic Surgery* 1997; 63: 339-344.
204. OKABAYASHI, K., TRIANTAFILLOU, A. N., YAMASHITA, M., AOE, M., DEMESTER, S. R., COOPER, J. D. & PATTERSON, G. A. Inhaled nitric oxide improves lung allograft function after prolonged storage. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1996; 112: 293-299.
205. LINDBERG, L., SJOBERG, T., INGEMANSSON, R. & STEENB, S. Inhalation of nitric oxide after lung transplantation. *Annals of Thoracic Surgery* 1996; 61: 956-962.
206. ADATIA, I., LILLEHEI, C., ARNOLD, J. H., THOMPSON, J. E., PALAZZO, R., FACKLER, J. C. & WESSEL, D. L. Inhaled nitric oxide in the treatment of postoperative graft dysfunction after lung transplantation. *Annals of Thoracic Surgery* 1994; 57: 1311-1318.
207. MACDONALD, P., MUNDY, J., ROGERS, P., HARRISON, G., BRANCH, J., GLANVILLE, A., KEOGH, A. & SPRATT, P. Successful treatment of life-threatening acute reperfusion injury after lung transplantation with inhaled nitric oxide. *Journal of Thoracic &*

- Cardiovascular Surgery* 1995; 110: 861-863.
208. ADATIA, I., PERRY, S., LANDZBERG, M., MOORE, P., THOMPSON, J. E. & WESSEL, D. L. Inhaled nitric oxide and hemodynamic evaluation of patients with pulmonary hypertension before transplantation. *Journal of the American College of Cardiology* 1995; 25: 1656-1664.
209. LINDBERG, L., KIMBLAD, P. O., SJOBERG, T., INGEMANSSON, R. & STEEN, S. Inhaled nitric oxide reveals and attenuates endothelial dysfunction after lung transplantation. *Annals of Thoracic Surgery* 1996; 62: 1639-1643.
210. BACHA, E. A., SELLAH, H., MURAKAMI, S., MAZMANIAN, G. M., DETRUIT, H., DE MONTPREVILLE, V., CHAPELIER, A. R., LIBERT, J. M., DARTEVELLE, P. G. & HERVE, P. Inhaled nitric oxide attenuates reperfusion injury in non-heartbeating-donor lung transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 1380-1386.
211. MURAKAMI, S., BACHA, E. A., HERVE, P., DETRUIT, H., CHAPELIER, A. R., DARTEVELLE, P. G. & MAZMANIAN, G. M. Inhaled nitric oxide and pentoxifylline in rat lung transplantation from non-heart-beating donors. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1997; 113: 821-829.
212. CHETHAM, P. M., SEFTON, W. D., BRIDGES, J. P., STEVENS, T. & MCMURTRY, I. F. Inhaled nitric oxide pretreatment but not posttreatment attenuates ischemia-reperfusion-induced pulmonary microvascular leak. *Anesthesiology* 1997; 86: 895-902.
213. GUIDOT, D. M., HYBERTSON, B. M., KITLOWSKI, R. P. & REPINE, J. E. Inhaled NO prevents IL-1-induced neutrophil accumulation and associated acute edema in isolated rat lungs. *American Journal of Physiology* 1996; 271: L225-L229.
214. FRIESE, R. S., FULLERTON, D. A., MCINTYRE, R. C., JR., REHRING, T. F., AGRAFOJO, J., BANERJEE, A. & HARKEN, A. H. NO prevents neutrophil-mediated pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury. *Journal of Surgical Research* 1996; 63: 23-28.

215. BLOOMFIELD, G. L., HOLLOWAY, S., RIDINGS, P. C., FISHER, B. J., BLOCHER, C. R., SHOLLEY, M., BUNCH, T., SUGERMAN, H. J. & FOWLER, A. A. Pretreatment with inhaled nitric oxide inhibits neutrophil migration and oxidative activity resulting in attenuated sepsis-induced acute lung injury. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 584-593.
216. EMIL, S., BERKELAND, J., KOSI, M. & ATKINSON, J. Inhaled nitric oxide prevents experimental platelet activating factor-induced shock. *Archives of Surgery* 1996; 131: 855-859.
217. NISHINA, K., MIKAWA, K., TAKAO, Y. & OBARA, H. Inhaled nitric oxide does not prevent endotoxin-induced lung injury in rabbits. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1997; 41: 399-407.
218. RAYHRER, C. S., EDMISTEN, T. D., CEPHAS, G. A., TRIBBLE, C. G., KRON, I. L. & YOUNG, J. S. Nitric oxide potentiates acute lung injury in an isolated rabbit lung model. *Annals of Thoracic Surgery* 1998; 65: 935-938.
219. BECKMAN, J. S. The physiological and pathological chemistry of nitric oxide. Dans *Nitric oxide: principles and actions*. ed. LANCASTER, J. R. J. San Diego: Academic Press. 1996; pp. 1-82.
220. NORONHA-DUTRA, A. A., EPPERLEIN, M. M. & WOLF, N. Reaction of nitric oxide with hydrogen peroxide to produce potentially cytotoxic singlet oxygen as a model for nitric oxide-mediated killing. *FEBS Letters*. 1993; 321: 59-62.
221. MAULIK, N., ENGELMAN, D. T., WATANABE, M., ENGELMAN, R. M., ROUSOU, J. A., FLACK, J. E., 3RD, DEATON, D. W., GORBUNOV, N. V., ELSAYED, N. M., KAGAN, V. E. & DAS, D. K. Nitric oxide/carbon monoxide. A molecular switch for myocardial preservation during ischemia. *Circulation* 1996; 94 (Suppl. 2): 398-406.
222. ENGELMAN, D. T., WATANABE, M., MAULIK, N., ENGELMAN, R. M., ROUSOU, J. A., FLACK, J. E., 3RD, DEATON, D. W. & DAS, D. K. Critical timing of nitric oxide supplementation in cardioplegic arrest and reperfusion. *Circula-*

- tion 1996; 94: (Suppl.2): 407-411.
223. HAUSEN, B., MULLER, P., BAHRA, M., RAMSAMOOJ, R. & HEWITT, C. W. Donor pretreatment with intravenous prostacyclin versus inhaled nitric oxide in experimental lung transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1714-1719.
224. FUJINO, S., NAGAHIRO, I., TRIANTAFILLOU, A. N., BOASQUEVISQUE, C. H., YANO, M., COOPER, J. D. & PATTERSON, G. A. Inhaled nitric oxide at the time of harvest improves early lung allograft function. *Annals of Thoracic Surgery* 1997; 63: 1383-1389.
225. PINSKY, D. J., NAKA, Y., CHOWDHURY, N. C., LIAO, H., OZ, M. C., MICHLER, R. E., KUBASZEWSKI, E., MALINSKI, T. & STERN, D. M. The nitric oxide/cyclic GMP pathway in organ transplantation: critical role in successful lung preservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994; 91: 12086-12090.
226. NAKA, Y., CHOWDHURY, N. C., LIAO, H., ROY, D. K., OZ, M. C., MICHLER, R. E. & PINSKY, D. J. Enhanced preservation of orthotopically transplanted rat lungs by nitroglycerin but not hydralazine. Requirement for graft vascular homeostasis beyond harvest vasodilation. *Circulation Research* 1995; 76: 900-906.
227. LIU, C. J., UEDA, M., KOSAKA, S., HIRATA, T., YOKOMISE, H., INUI, K., HITOMI, S. & WADA, H. A newly developed solution enhances thirty-hour preservation in a canine lung transplantation model. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1996; 112: 569-576.
228. KING, R. C., BINNS, O. A., KANITHANON, R. C., COPE, J. T., CHUN, R. L., SHOCKEY, K. S., TRIBBLE, C. G. & KRON, I. L. Low-dose sodium nitroprusside reduces pulmonary reperfusion injury. *Annals of Thoracic Surgery* 1997; 63: 1398-1404.
229. FULLERTON, D. A., JAGGERS, J., PIEDALUE, F., GROVER, F. L. & MCINTYRE, R. C., JR. Effective control of refractory pulmonary hypertension after cardiac operations. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1997; 113: 363-368.

230. GOLDMAN, A. P., DELIUS, R. E., DEANFIELD, J. E. & MACRAE, D. J. Nitric oxide is superior to prostacyclin for pulmonary hypertension after cardiac operations. *Annals of Thoracic Surgery* 1995; 60: 300-305.
231. BOOKE, M., BRADFORD, D. W., HINDER, F., HARPER, D., BRAUCHLE, R. W., TRABER, L. D. & TRABER, D. L. Effects of inhaled nitric oxide and nebulized prostacyclin on hypoxic pulmonary vasoconstriction in anesthetized sheep. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 1841-1848.
232. VAN HEERDEN, P. V., WEBB, S. A., HEE, G., CORKERON, M. & THOMPSON, W. R. Inhaled aerosolized prostacyclin as a selective pulmonary vasodilator for the treatment of severe hypoxaemia. *Anaesthesia & Intensive Care* 1996; 24: 87-90.
233. WALMRATH, D., SCHNEIDER, T., SCHERMULY, R., OLSCHIEWSKI, H., GRIMMINGER, F. & SEEGER, W. Direct comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized prostacyclin in acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; 153: 991-996.
234. ZWISSLER, B., KEMMING, G., HABLER, O., KLEEN, M., MERKEL, M., HALLER, M., BRIEGEL, J., WELTE, M. & PETER, K. Inhaled prostacyclin (PGI₂) versus inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; 154: 1671-1677.
235. MIKHAIL, G., GIBBS, J., RICHARDSON, M., WRIGHT, G., KHAGHANI, A., BANNER, N. & YACOB, M. An evaluation of nebulized prostacyclin in patients with primary and secondary pulmonary hypertension. *European Heart Journal* 1997; 18: 1499-1504.
236. SCHULZE-NEICK, I., UHLEMANN, F., NURNBERG, J. H., BULTMANN, M., HAAS, N. A., DAHNERT, I., ALEXIMESHKISHVILI, V., OPITZ, C., PAPPERT, D., ROSSAINT, R., KLEBER, F. X., HETZER, R. & LANGE, P. E. Aerosolized prostacyclin for preoperative evaluation and post-cardio-surgical treatment of patients with pulmonary hypertension. [Allemand]. *Zeitschrift für Kardiologie* 1997; 86: 71-80.

237. TIBBALLS, J. Inhaled prostacyclin (PGI₂) versus nitric oxide (NO). [Lettre]. *Anaesthesia & Intensive Care* 1996; 24: 515-516.
238. VAN HEERDEN, P. V. Inhaled prostacyclin (PGI₂) versus nitric oxide (NO). [Lettre - Réponse]. *Anaesthesia & Intensive Care* 1996; 24: 516.
239. PARKER, T. A., IVY, D. D., KINSELLA, J. P., TORIELLI, F., RUYLE, S. Z., THILO, E. H. & ABMAN, S. H. Combined therapy with inhaled nitric oxide and intravenous prostacyclin in an infant with alveolar-capillary dysplasia. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 155: 743-746.
240. ICHIDA, F., UESE, K., HASHIMOTO, I., HAMAMICHI, Y., TSUBATA, S. FUKAHARA, K., MURAKAMI, A. & MIYAWAKI, T. Acute effect of oral prostacyclin and inhaled nitric oxide on pulmonary hypertension in children. *Journal of Cardiology* 1997; 29: 217-224.
241. LONIGRO, A. J. & DAWSON, C. A. Vascular responses to prostaglandin F₂ alpha in isolated cat lungs. *Circulation Research* 1975; 36: 706-712.
242. TUCKER, A., WEIR, E. K., GROVER, R. F. & REEVES, J. T. Oxygen-tension-dependent pulmonary vascular responses to vasoactive agents. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology* 1977; 55: 251-257.
243. SHIJO, H., SASAKI, H., MIYAJIMA, Y. & OKUMURA, M. Prostaglandin F₂ alpha and indomethacin in hepatogenic pulmonary angiodyplasia. Effects on pulmonary hemodynamics and gas exchange. *Chest* 1991; 100: 873-875.
244. MÉLOT, C., DECHAMPS, P., HALLEMANS, R., DECROLY, P. & MOLS, P. Enhancement of hypoxic pulmonary vasoconstriction by low dose almitrine bismesylate in normal humans. *American Review of Respiratory Disease* 1989; 139: 111-119.
245. REYES, A., ROCA, J., RODRIGUEZ-ROISIN, R., TORRES, A., USSETTI, P. & WAGNER, P. D. Effect of almitrine on ventilation-perfusion distribution in adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1988; 137: 1062-1067.

246. PROST, J. F., DESCHE, P., JARDIN, F. & MARGAIRAZ, A. Comparison of the effects of intravenous almitrine and positive end-expiratory pressure on pulmonary gas exchange in adult respiratory distress syndrome. *European Respiratory Journal* 1991; 4: 683-687.
247. PAYEN, D. M., GATECEL, C. & PLAISANCE, P. Almitrine effect on nitric oxide inhalation in adult respiratory distress syndrome. [Lettre]. *The Lancet* 1993; 341: 1664.
248. WYSOCKI, M., DELCLAUX, C., ROUPIE, E., LANGERON, O., LIU, N., HERMAN, B., LEMAIRE, F. & BROCHARD, L. Additive effect on gas exchange of inhaled nitric oxide and intravenous almitrine bismesylate in the adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 254-259.
249. PUYBASSET, L., ROUBY, J. J., MOURGEON, E., CLUZEL, P., SOUHIL, Z., LAWKOUNE, J. D., STEWART, T., DEVILLIERS, C., LU, Q., ROCHE, S. & ET AL. Factors influencing cardiopulmonary effects of inhaled nitric oxide in acute respiratory failure. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 152: 318-328.
250. CAPELLIER, G., MAUPOIL, V., BOILLOT, A., KANTE-LIP, J. P., ROCHETTE, L., REGNARD, J. & BARALE, F. L-NAME aggravates pulmonary oxygen toxicity in rats. *European Respiratory Journal* 1996; 9: 2531-2536.
251. FRANK, L., SUMMERVILLE, J. & MASSARO, D. Protection from oxygen toxicity with endotoxin. Role of the endogenous antioxidant enzymes of the lung. *Journal of Clinical Investigation* 1980; 65: 1104-1110.
252. DREYFUSS, D., BASSET, G., SOLER, P. & SAUMON, G. Intermittent positive-pressure hyperventilation with high inflation pressures produces pulmonary microvascular injury in rats. *American Review of Respiratory Disease* 1985; 132: 880-884.
253. DREYFUSS, D., SOLER, P., BASSET, G. & SAUMON, G. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *American Review of Respiratory Disease* 1988; 137: 1159-1164.

254. BOWTON, D. L. & KONG, D. L. High tidal volume ventilation produces increased lung water in oleic acid-injured rabbit lungs. *Critical Care Medicine* 1989; 17: 908-911.
255. GAMMON, R. B., SHIN, M. S., GROVES, R. H., JR., HARDIN, J. M., HSU, C. & BUCHALTER, S. E. Clinical risk factors for pulmonary barotrauma: a multivariate analysis. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 152: 1235-1240.
256. TSUNO, K., PRATO, P. & KOLOBOW, T. Acute lung injury from mechanical ventilation at moderately high airway pressures. *Journal of Applied Physiology*. 1990; 69: 956-961.
257. DREYFUSS, D., SOLER, P. & SAUMON, G. Mechanical ventilation-induced pulmonary edema. Interaction with previous lung alterations. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 151: 1568-1575.
258. HERNANDEZ, L. A., COCKER, P. J., MAY, S., THOMPSON, A. L. & PARKER, J. C. Mechanical ventilation increases microvascular permeability in oleic acid-injured lungs. *Journal of Applied Physiology*. 1990; 69: 2057-2061.
259. DREYFUSS, D. & SAUMON, G. Barotrauma is volutrauma, but which volume is the one responsible?. [Éditorial]. *Intensive Care Medicine* 1992; 18: 139-141.
260. HICKLING, K. G., HENDERSON, S. J. & JACKSON, R. Low mortality associated with low volume pressure limited ventilation with permissive hypercapnia in severe adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Medicine* 1990; 16: 372-377.
261. AMATO, M. B., BARBAS, C. S., MEDEIROS, D. M., SCHETTINO, G., DE P, LORENZI FILHO, G., KAIRALLA, R. A., DEHEINZELIN, D., MORAIS, C., FERNANDES, E., DE O, TAKAGAKI, T. Y. & ET AL. Beneficial effects of the "open lung approach" with low distending pressures in acute respiratory distress syndrome. A prospective randomized study on mechanical ventilation. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 152: 1835-1846.

262. KALFON, P., RAO, G. S., GALLART, L., PUYBASSET, L., CORIAT, P. & ROUBY, J. J. Permissive hypercapnia with and without expiratory washout in patients with severe acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87: 6-17.
263. PUYBASSET, L., STEWART, T., ROUBY, J. J., CLUZEL, P., MOURGEON, E., BELIN, M. F., ARTHAUD, M., LANDAULT, C. & VIARS, P. Inhaled nitric oxide reverses the increase in pulmonary vascular resistance induced by permissive hypercapnia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1994; 80: 1254-1267.
264. STEWART, T. E. & SLUTSKY, A. S. Current status of pressure limitation during mechanical ventilation for ARDS. *Intensive Care World* 1997; 14: 73-76.
265. ASHBAUGH, D. G., BIGELOW, D. B., PETTY, T. L. & LEVINE, B. E. Acute respiratory distress in adults. *The Lancet* 1967; 2: 319-323.
266. SLUTSKY, A. S. Consensus conference on mechanical ventilation--28-30 janvier 1993 à Northbrook, Illinois, É-U-A. Part I. European Society of Intensive Care Medicine, the ACCP and the SCCM. [Revue] [69 refs]. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 64-79.
267. CARLON, G. C., HOWLAND, W. S., RAY, C., MIODOWNIK, S., GRIFFIN, J. P. & GROEGER, J. S. High-frequency jet ventilation. A prospective randomized evaluation. *Chest* 1983; 84: 551-559.
268. HOLZAPFEL, L., ROBERT, D., PERRIN, F., GAUSSORGUES, P. & GIUDICELLI, D. P. Comparison of high-frequency jet ventilation to conventional ventilation in adults with respiratory distress syndrome. *Intensive Care Medicine* 1987; 13: 100-105.
269. SCHRAGL, E., DONNER, A., KASHANIPOUR, A. & ALLOY, A. Preliminary experiences with superimposed high-frequency jet ventilation in intensive care. [Allemand]. *Anaesthesist*. 1995; 44: 429-435.
270. LANGER, M., MASCHERONI, D., MARCOLIN, R. & GATTINONI, L. The prone position in ARDS patients. A

- clinical study. *Chest* 1988; 94: 103-107.
271. LAMM, W. J., GRAHAM, M. M. & ALBERT, R. K. Mechanism by which the prone position improves oxygenation in acute lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 150: 184-193.
272. FRIDRICH, P., KRAFFT, P., HOCHLEUTHNER, H. & MAURITZ, W. The effects of long-term prone positioning in patients with trauma-induced adult respiratory distress syndrome. *Anesthesia & Analgesia* 1996; 83: 1206-1211.
273. FUHRMAN, B. P., PACZAN, P. R. & DEFRANCISIS, M. Perfluorocarbon-associated gas exchange. *Critical Care Medicine* 1991; 19: 712-722.
274. TÛTÛNCÛ, A. S., FAITHFULL, N. S. & LACHMANN, B. Intratracheal perfluorocarbon administration combined with mechanical ventilation in experimental respiratory distress syndrome: dose-dependent improvement of gas exchange. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 962-969.
275. LEACH, C. L., FUHRMAN, B. P., MORIN, F. C., 3D & RATH, M. G. Perfluorocarbon-associated gas exchange (partial liquid ventilation) in respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, controlled study. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 1270-1278.
276. KINSELLA, J. P. & ABMAN, S. H. Inhalational nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 1993; 91: 997-998.
277. SCHRAGL, E., DONNER, A., KASHANIPOUR, A., ULLRICH, R. & ALOY, A. Superimposed high-frequency jet ventilation (SHFJV) in the administration of NO. Technical basis and early clinical results with ARDS. [Allemand]. *Anaesthesist* 1995; 44: 843-849.
278. PAPAZIAN, L., BREGEON, F., GAILLAT, F., THIRION, X., GAINNIER, M., GREGOIRE, R., SAUX, P., GOUIN, F., JAMMES, Y. & AUFFRAY, J. P. Respective and combined effects of prone position and inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical*

- Care Medicine* 1998; 157: 580-585.
279. JOLLIET, P., BULPA, P., RITZ, M., RICOU, B., LOPEZ, J. & CHEVROLET, J. C. Additive beneficial effects of the prone position, nitric oxide, and almitrine bismesylate on gas exchange and oxygen transport in acute respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 786-794.
280. GILLART, T., BAZIN, J. E., COSSERANT, B., GUELON, D., AIGOUY, L., MANSOOR, O. & SCHOEFFLER, P. Combined nitric oxide inhalation, prone positioning and almitrine infusion improve oxygenation in severe ARDS. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1998; 45: 402-409.
281. LEVY, B., BOLLAERT, P. E., BAUER, P., NACE, L., AUDIBERT, G. & LARCAN, A. Therapeutic optimization including inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome in a polyvalent intensive care unit. *Journal of Trauma* 1995; 38: 370-374.
282. GUINARD, N., BELOUCIF, S., GATECEL, C., MATEO, J. & PAYEN, D. Interest of a therapeutic optimization strategy in severe ARDS. *Chest* 1997; 111: 1000-1007.
283. MULLER, B., KLESCHYOV, A. L. & STOCLET, J. C. Evidence for *N*-acetylcysteine-sensitive nitric oxide storage as dinitrosyl-iron complexes in lipopolysaccharide-treated rat aorta. *British Journal of Pharmacology* 1996; 119: 1281-1285.
284. MÜLSCH, A., MORDVINTCEV, P., BASSENGE, E., JUNG, F., CLEMENT, B. & BUSSE, R. *In vivo* spin trapping of glyceryl trinitrate-derived nitric oxide in rabbit blood vessels and organs. *Circulation* 1995; 92: 1876-1882.
285. WHELAN, C. J. Prospects for the development of new drugs for the therapy of respiratory diseases. [Revue] [123 refs]. *Drugs of Today* 1996; 32: 295-311.
286. BERNARD, G. R., ARTIGAS, A., BRIGHAM, K. L., CARLET, J., FALKE, K., HUDSON, L., LAMY, M., LEGALL, J. R., MORRIS, A. & SPRAGG, R. The American-European consensus conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes,

- and clinical trial coordination. [Revue] [28 refs]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; **149**: 818-824.
287. TRONCY, E., FRANCOEUR, M. & BLAISE, G. Inhaled nitric oxide - Clinical applications, indications, and toxicology [Revue] [100 refs]. *Canadian Journal of Anaesthesia* 1997; **44**: 973-988.
288. TRONCY, E., COLLET, J. P., SHAPIRO, S., GUIMOND, J. G., BLAIR, L., DUCRUET, T., FRANCOEUR, M., CHARBONNEAU, M. & BLAISE, G. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: a pilot randomized controlled study. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; **157**: 1483-1488.
289. MURRAY, J. F., MATTHAY, M. A., LUCE, J. M. & FLICK, M. R. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1988; **138**: 720-723.
290. ARTIGAS, A., BERNARD, G. R., CARLET, J., DREYFUSS, D., GATTINONI, L., HUDSON, L., LAMY, M., MARINI, J. J., MATTHAY, M. A., PINSKY, M. R., SPRAGG, R. & SUTER, P. M. The American-European consensus conference on ARDS, Part 2 - Ventilatory, pharmacologic, supportive therapy, study design strategies, and issues related to recovery and remodeling. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; **157**: 1332-1347.
291. KRAFFT, P., FRIDRICH, P., PERNERSTORFER, T., FITZGERALD, R. D., KOC, D., SCHNEIDER, B., HAMMERLE, A. F. & STELTZER, H. The acute respiratory distress syndrome - Definitions, severity and clinical outcome - An analysis of 101 clinical investigations. *Intensive Care Medicine* 1996; **22**: 519-529.
292. MEDURI, G. U. The role of the host defense response in the progression and outcome of ARDS. Dans *Yearbook of intensive care and emergency medicine* ed. VINCENT, J.-L. Berlin: Springer-Verlag. 1998; pp. 38-55.
293. WHEELER, A. P., CARROLL, F. E. & BERNARD, G. R. Radiographic issues in adult respiratory distress syndrome. [Revue] [40 refs]. *New Horizons* 1993; **1**: 471-477.

294. MONTGOMERY, A. B., STAGER, M. A., CARRICO, C. J. & HUDSON, L. D. Causes of mortality in patients with the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1985; 132: 485-489.
295. SUCHYTA, M. R., CLEMMER, T. P., ELLIOTT, C. G., ORME, J. F., JR. & WEAVER, L. K. The adult respiratory distress syndrome. A report of survival and modifying factors. *Chest* 1992; 101: 1074-1079.
296. FEIN, A. M., LIPPMANN, M., HOLTZMAN, H., ELIRAZ, A. & GOLDBERG, S. K. The risk factors, incidence, and prognosis of ARDS following septicemia. *Chest* 1983; 83: 40-42.
297. ARTIGAS, A., LEGALL, J. R., CHASTANG, C. L., CARLET, J., BLANCH, L. & FERNANDEZ, R. Clinical presentation, prognostic factors, and outcome of ARDS in the European collaborative study (1985-1987) - A preliminary report. Dans *Adult respiratory distress syndrome* eds. ZAPOL, W. M. & LEMAIRE, F. New York: Marcel Dekker. 1991; pp. 37-63.
298. DOYLE, R. L., SZAFLARSKI, N., MODIN, G. W., WIENER-KRONISH, J. P. & MATTHAY, M. A. Identification of patients with acute lung injury. Predictors of mortality. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 152: 1818-1824.
299. MEDURI, G. U. The role of the host defence response in the progression and outcome of ARDS: pathophysiological correlations and response to glucocorticoid treatment. [Review] [219 refs]. *European Respiratory Journal*. 1996; 9: 2650-2670.
300. NAKOS, G., KITSIOULI, E. I., TSANGARIS, I. & LEKKA, M. E. Bronchoalveolar lavage fluid characteristics of early intermediate and late phases of ARDS - Alterations in leukocytes, proteins, PAF and surfactant components. *Intensive Care Medicine* 1998; 24: 296-303.
301. HEADLEY, A. S., TOLLEY, E. & MEDURI, G. U. Infections and the inflammatory response in acute respiratory distress syndrome. *Chest* 1997; 111: 1306-1321.
302. HUDSON, L. D., MILBERG, J. A., ANARDI, D. & MAUNDER, R. J. Clinical risks for de-

- velopment of the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 151: 293-301.
303. KNAUS, W. A., SUN, X., HAKIM, R. B. & WAGNER, D. P. Evaluation of definitions for adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 150: 311-317.
304. ANZUETO, A., BAUGHMAN, R. P., GUNTUPALLI, K. K., WEG, J. G., WIEDEMANN, H. P., RAVENTOS, A. A., LEMAIRE, F., LONG, W., ZACCARDELLI, D. S. & PATTISHALL, E. N. Aerosolized surfactant in adults with sepsis-induced acute respiratory distress syndrome. Exosurf Acute Respiratory Distress Syndrome Sepsis Study Group. *New England Journal of Medicine* 1996; 334: 1417-1421.
305. MILBERG, J. A., DAVIS, D. R., STEINBERG, K. P. & HUDSON, L. D. Improved survival of patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): 1983-1993. *JAMA* 1995; 273: 306-309.
306. ELLIOTT, C. G., RASMUS-SON, B. Y., CRAPO, R. O., MORRIS, A. H. & JENSEN, R. L. Prediction of pulmonary function abnormalities after adult respiratory distress syndrome (ARDS). *American Review of Respiratory Disease* 1987; 135: 634-638.
307. HUDSON, L. D. What happens to survivors of the adult respiratory distress syndrome?. [Review] [25 refs]. *Chest* 1994; 105 (Suppl.): 123S-126S.
308. McHUGH, L. G., MILBERG, J. A., WHITCOMB, M. E., SCHOENE, R. B., MAUNDER, R. J. & HUDSON, L. D. Recovery of function in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 150: 90-94.
309. PETERS, J. I., BELL, R. C., PRIHODA, T. J., HARRIS, G., ANDREWS, C. & JOHANSON, W. G. Clinical determinants of abnormalities in pulmonary functions in survivors of the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1989; 139: 1163-1168.
310. LUCE, J. M. Acute lung injury and the acute respiratory dis-

- stress syndrome. [Revue] [107 refs]. *Critical.Care Medicine* 1998; 26: 369-376.
311. WEINERT, C. R., GROSS, C. R., KANGAS, J. R., BURY, C. L. & MARINELLI, W. A. Health-related quality of life after acute lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 156: 1120-1128.
312. SCHELLING, G., STOLL, C., HALLER, M., BRIEGEL, J., MANERT, W., HUMMEL, T., LENHART, A., HEYDUCK, M., POLASEK, J., MEIER, M., PREUSS, U., BULLINGER, M., SCHUFFEL, R. & PETER, K. Health-related quality of life and posttraumatic stress disorder in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *Critical.Care Medicine* 1998; 26: 651-659.
313. ANONYME. Conference report: Mechanisms of acute respiratory failure. *American Review of Respiratory Disease*. 1977; 115: 1071-1078.
314. BRESLER, M. J. & STERNBACH, G. L. The adult respiratory distress syndrome. [Revue] [34 refs]. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 1989; 7: 419-430.
315. CUNNINGHAM, A. J. Acute respiratory distress syndrome—two decades later. [Revue] [54 refs]. *Yale Journal of Biology & Medicine* 1991; 64: 387-402.
316. LEE, J., TURNER, J. S., MORGAN, C. J., KEOGH, B. F. & EVANS, T. W. Adult respiratory distress syndrome: has there been a change in outcome predictive measures? *Thorax* 1994; 49: 596-597.
317. JOLY, L. M. & BRUNET, F. Artificial ventilation in acute respiratory distress syndrome in adults. Towards an individual optimization. [Revue] [24 refs] [Français]. *Presse Medicale*. 1996; 25: 1473-1478.
318. WEBSTER, N. R., COHEN, A. T. & NUNN, J. F. Adult respiratory distress syndrome - How many cases in the UK?. *Anaesthesia* 1988; 43: 923-926.
319. VILLAR, J. & SLUTSKY, A. S. The incidence of the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1989; 140: 814-816.

320. THOMSEN, G. E. & MORRIS, A. H. Incidence of the adult respiratory distress syndrome in the state of Utah. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; **152**: 965-971.
321. LEWANDOWSKI, K., METZ, J., DEUTSCHMANN, C., PREISS, H., KUHLEN, R., ARTIGAS, A. & FALKE, K. J. Incidence, severity, and mortality of acute respiratory failure in Berlin, Germany. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; **151**: 1121-1125.
322. PEPE, P. E., POTKIN, R. T., REUS, D. H., HUDSON, L. D. & CARRICO, C. J. Clinical predictors of the adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Surgery* 1982; **144**: 124-130.
323. HYERS, T. M. Prediction of survival and mortality in patients with adult respiratory distress syndrome. [Revue] [20 refs]. *New Horizons*. 1993; **1**: 466-470.
324. LAMY, M., DEBY-DUPONT, G. & DAMAS, P. ARDS and sepsis: resemblances and differences. Dans *Clinical trials for the treatment of sepsis*. eds. SIBBALD, W. J. & VINCENT, J.-L. Berlin: Springer-Verlag. 1995; pp. 52-68.
325. FOWLER, A. A., HAMMAN, R. F., GOOD, J. T., BENSON, K. N., BAIRD, M., EBERLE, D. J., PETTY, T. L. & HYERS, T. M. Adult respiratory distress syndrome: risk with common predispositions. *Annals of Internal Medicine* 1983; **98**: 593-597.
326. MOSS, M., BUCHER, B., MOORE, F. A., MOORE, E. E. & PARSONS, P. E. The role of chronic alcohol abuse in the development of acute respiratory distress syndrome in adults. *JAMA* 1996; **275**: 50-54.
327. SLOANE, P. J., GEE, M. H., GOTTLIEB, J. E., ALBERTINE, K. H., PETERS, S. P., BURNS, J. R., MACHIEDO, G. & FISH, J. E. A multicenter registry of patients with acute respiratory distress syndrome. Physiology and outcome. *American Review of Respiratory Disease*. 1992; **146**: 419-426.
328. WIENER-KRONISH, J. P., GROPPER, M. A. & MATTHAY, M. A. The adult respiratory distress syndrome: definition and prognosis, pathoge-

- nesis and treatment. [Revue] [129 refs]. *British Journal of Anaesthesia* 1990; 65: 107-129.
329. GEE, M. H., GOTTLIEB, J. E., ALBERTINE, K. H., KUBIS, J. M., PETERS, S. P. & FISH, J. E. Physiology of aging related to outcome in the adult respiratory distress syndrome. *Journal of Applied Physiology*. 1990; 69: 822-829.
330. BELL, R. C., COALSON, J. J., SMITH, J. D. & JOHANSON, W. G., JR. Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Annals of Internal Medicine* 1983; 99: 293-298.
331. SEIDENFELD, J. J., POHL, D. F., BELL, R. C., HARRIS, G. D. & JOHANSON, W. G., JR. Incidence, site, and outcome of infections in patients with the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1986; 134: 12-16.
332. JARDIN, F., PROST, J. F., BAZIN, M., DESFOND, P., OZIER, Y. & MARGAIRAZ, A. Outcome of the adult acute respiratory distress syndrome. Predictive value of a severity index calculated from arterial oxygenation. [Français]. *Nouvelle Presse Medicale*. 1982; 11: 29-33.
333. MOREL, D. R., DARGENT, F., BACHMANN, M., SUTER, P. M. & JUNOD, A. F. Pulmonary extraction of serotonin and propranolol in patients with adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1985; 132: 479-484.
334. KNAUS, W. A., DRAPER, E. A., WAGNER, D. P. & ZIMMERMAN, J. E. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical Care Medicine* 1985; 13: 818-829.
335. BAKER, S. P., O'NEILL, B., HADDON, W. JR. & LONG, W. B. The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *Journal of Trauma*. 1974; 14: 187-196.
336. GORIS, R. J., TE BOEKHORST, T. P., NUYTINCK, J. K. & GIMBRERE, J. S. Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? *Archives of Surgery* 1985; 120: 1109-1115.
337. LE GALL, J. R., LOIRAT, P.

- & ALPEROVITCH, A. Simplified acute physiological score for intensive care patients. [Lettre]. *The Lancet* 1983; 2: 741.
338. FOWLER, A. A., HAMMAN, R. F., ZERBE, G. O., BENSON, K. N. & HYERS, T. M. Adult respiratory distress syndrome. Prognosis after onset. *American Review of Respiratory Disease*. 1985; 132: 472-478.
339. ARTIGAS, A. & MANCEBO, J. Etiology and multiple organ system failure as prognostic factors in ARDS. Dans *Update in intensive care and emergency medicine*. ed. VINCENT, J.-L. Berlin: Springer-Verlag. 1987; pp. 163-169.
340. BONE, R. C., MAUNDER, R., SLOTMAN, G., SILVERMAN, H., HYERS, T. M., KERSTEIN, M. D. & URSPRUNG, J. J. An early test of survival in patients with the adult respiratory distress syndrome. The $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ratio and its differential response to conventional therapy. Prostaglandin E_1 Study Group. *Chest* 1989; 96: 849-851.
341. GOWDA, M. S. & KLOCKE, R. A. Variability of indices of hypoxemia in adult respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 41-45.
342. GOULD, M. K., RUOSS, S. J., RIZK, N. W., DOYLE, R. L. & RAFFIN, T. A. Indices of hypoxemia in patients with acute respiratory distress syndrome: reliability, validity, and clinical usefulness. [Éditorial]. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 6-8.
343. PITTET, J. F., MACKERSIE, R. C., MARTIN, T. R. & MATTHAY, M. A. Biological markers of acute lung injury: Prognostic and pathogenetic significance. [Revue] [257 refs]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 155: 1187-1205.
344. RUBIN, D. B., WIENER-KRONISH, J. P., MURRAY, J. F., GREEN, D. R., TURNER, J., LUCE, J. M., MONTGOMERY, A. B., MARKS, J. D. & MATTHAY, M. A. Elevated von Willebrand factor antigen is an early plasma predictor of acute lung injury in nonpulmonary sepsis syndrome. *Journal of Clinical Investigation*. 1990; 86: 474-480.
345. MOSS, M., GILLESPIE, M. K., ACKERSON, L., MOORE, F. A., MOORE, E. E. &

- PARSONS, P. E. Endothelial cell activity varies in patients at risk for the adult respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 1782-1786.
346. PISON, U., OBERTACKE, U., SEEGER, W. & HAWGOOD, S. Surfactant protein A (SP-A) is decreased in acute parenchymal lung injury associated with polytrauma. *European Journal of Clinical Investigation* 1992; 22: 712-718.
347. DONNELLY, S. C., MACGREGOR, I., ZAMANI, A., GORDON, M. W., ROBERTSON, C. E., STEEDMAN, D. J., LITTLE, K. & HASLETT, C. Plasma elastase levels and the development of the adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 151: 1428-1433.
348. DONNELLY, S. C., HASLETT, C., DRANSFIELD, I., ROBERTSON, C. E., CARTER, D. C., ROSS, J. A., GRANT, I. S. & TEDDER, T. F. Role of selectins in development of adult respiratory distress syndrome. *The Lancet* 1994; 344: 215-219.
349. SIMMS, H. H. & D'AMICO, R. Increased PMN CD11b/CD18 expression following post-traumatic ARDS. *Journal of Surgical Research* 1991; 50: 362-367.
350. LAURENT, T., MARKERT, M., VON FLIEDNER, V., FEIHL, F., SCHALLER, M. D., TAGAN, M. C., CHIOLERO, R. & PERRET, C. CD11b/CD18 expression, adherence, and chemotaxis of granulocyte in adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: 1534-1538.
351. TRACEY, K. J., LOWRY, S. F. & CERAMI, A. Cachectin/TNF-alpha in septic shock and septic adult respiratory distress syndrome. [Review] [33 refs]. *American Review of Respiratory Disease* 1988; 138: 1377-1379.
352. MARKS, J. D., MARKS, C. B., LUCE, J. M., MONTGOMERY, A. B., TURNER, J., METZ, C. A. & MURRAY, J. F. Plasma tumor necrosis factor in patients with septic shock. Mortality rate, incidence of adult respiratory distress syndrome, and effects of methylprednisolone administration. *American Review of Respiratory Disease* 1990; 141: 94-97.

353. SILER, T. M., SWIERKOSZ, J. E., HYERS, T. M., FOWLER, A. A. & WEBSTER, R. O. Immunoreactive interleukin-1 in bronchoalveolar lavage fluid of high-risk patients and patients with the adult respiratory distress syndrome. *Experimental Lung Research*. 1989; 15: 881-894.
354. JACOBS, R. F., TABOR, D. R., BURKS, A. W. & CAMPBELL, G. D. Elevated interleukin-1 release by human alveolar macrophages during the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1989; 140: 1686-1692.
355. SUTER, P. M., SUTER, S., GIRARDIN, E., ROUX-LOMBARD, P., GRAU, G. E. & DAYER, J. M. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *American Review of Respiratory Disease*. 1992; 145: 1016-1022.
356. JORENS, P. G., VAN DAMME, J., DE BACKER, W., BOSSAERT, L., DE JONGH, R. F., HERMAN, A. G. & RAMPART, M. Interleukin 8 (IL-8) in the bronchoalveolar lavage fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome (ARDS) and patients at risk for ARDS. *Cytokine*. 1992; 4: 592-597.
357. MILLER, E. J., COHEN, A. B., NAGAO, S., GRIFFITH, D., MAUNDER, R. J., MARTIN, T. R., WEINER-KRONISH, J. P., STICHERLING, M., CHRISTOPHERS, E. & MATTHAY, M. A. Elevated levels of NAP-1/interleukin-8 are present in the airspaces of patients with the adult respiratory distress syndrome and are associated with increased mortality. *American Review of Respiratory Disease*. 1992; 146: 427-432.
358. DONNELLY, S. C., STRIETER, R. M., KUNKEL, S. L., WALZ, A., ROBERTSON, C. R., CARTER, D. C., GRANT, I. S., POLLOK, A. J. & HASLETT, C. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *The Lancet* 1993; 341: 643-647.
359. TORRE, D., ZEROLI, C., GIOLA, M., FIORI, G. P., MINOJA, G., MARAGGIA, D. & CHIARANDA, M. Levels of interleukin-8 in patients with

- adult respiratory distress syndrome. [Lettre]. *Journal of Infectious Diseases*. 1993; 167: 505-506.
360. ZILOW, G., JOKA, T., OBERTACKE, U., ROTHER, U. & KIRSCHFINK, M. Generation of anaphylatoxin C3a in plasma and bronchoalveolar lavage fluid in trauma patients at risk for the adult respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine* 1992; 20: 468-473.
361. STEPHENSON, A. H., LONIGRO, A. J., HYERS, T. M., WEBSTER, R. O. & FOWLER, A. A. Increased concentrations of leukotrienes in bronchoalveolar lavage fluid of patients with ARDS or at risk for ARDS. *American Review of Respiratory Disease*. 1988; 138: 714-719.
362. DAVIS, J. M., MEYER, J. D., BARIE, P. S., YURT, R. W., DUHANEY, R., DINEEN, P. & SHIRES, G. T. Elevated production of neutrophil leukotriene B4 precedes pulmonary failure in critically ill surgical patients. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. 1990; 170: 495-500.
363. MATSUMOTO, K., TAKI, F., KONDOH, Y., TANIGUCHI, H. & TAKAGI, K. Platelet-activating factor in bronchoalveolar lavage fluid of patients with adult respiratory distress syndrome. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*. 1992; 19: 509-515.
364. MATHRU, M., ROONEY, M. W., DRIES, D. J., HIRSCH, L. J., BARNES, L. & TOBIN, M. J. Urine hydrogen peroxide during adult respiratory distress syndrome in patients with and without sepsis. *Chest* 1994; 105: 232-236.
365. LEFF, J. A., PARSONS, P. E., DAY, C. E., TANIGUCHI, N., JOCHUM, M., FRITZ, H., MOORE, F. A., MOORE, E. E., MCCORD, J. M. & REPI-NE, J. E. Serum antioxidants as predictors of adult respiratory distress syndrome in patients with sepsis. *The Lancet* 1993; 341: 777-780.
366. STRIETER, R. M., LYNCH, J. P., BASHA, M. A., STANDIFORD, T. J., KASAHARA, K. & KUNKEL, S. L. Host responses in mediating sepsis and adult respiratory distress syndrome. [Review] [112 refs]. *Seminars in Respiratory Infections*. 1990; 5: 233-247.
367. CIRINO, G. Multiple controls

- in inflammation. Extracellular and intracellular phospholipase A₂, inducible and constitutive cyclooxygenase, and inducible nitric oxide synthase. [Revue] [46 refs]. *Biochemical Pharmacology* 1998; 55: 105-111.
368. DE MAIO, A. The heat-shock response. [Revue] [96 refs]. *New Horizons*. 1995; 3: 198-207.
369. MINOWADA, G. & WELCH, W. J. Clinical implications of the stress response. [Revue] [61 refs]. *Journal of Clinical Investigation*. 1995; 95: 3-12.
370. COBB, J. P., HOTCHKISS, R. S., KARL, I. E. & BUCHMAN, T. G. Mechanisms of cell injury and death. [Revue] [36 refs]. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 3-10.
371. PANNEN, B. H. & ROBOTHAM, J. L. The acute-phase response. [Revue] [84 refs]. *New Horizons*. 1995; 3: 183-197.
372. CERAMI, A. Inflammatory cytokines. [Revue] [45 refs]. *Clinical Immunology & Immunopathology*. 1992; 62: S3-S10.
373. BAUMANN, H. & GAUL-DIE, J. The acute phase response. [Revue] [66 refs]. *Immunology Today* 1994; 15: 74-80.
374. BLACKWELL, T. S. & CHRISTMAN, J. W. Sepsis and cytokines: current status. [Revue] [72 refs]. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 110-117.
375. GALLEY, H. F. & WEBSTER, N. R. The immuno-inflammatory cascade. [Revue] [24 refs]. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 77: 11-16.
376. BODY, S. C. Platelet activation and interactions with the microvasculature. [Revue] [77 refs]. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1996; 27 (Suppl.1): S13-S25.
377. WIZEMANN, T. M., GARDNER, C. R., LASKIN, J. D., QUINONES, S., DURHAM, S. K., GOLLER, N. L., OHNISHI, S. T. & LASKIN, D. L. Production of nitric oxide and peroxynitrite in the lung during acute endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*. 1994; 56: 759-768.
378. BECKMAN, J. S. & KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. [Re-

- vue] [109 refs]. *American Journal of Physiology*. 1996; 271: C1424-C1437.
379. SZABÒ, C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. [Revue] [162 refs]. *Shock* 1996; 6: 79-88.
380. BOYLE, E. M., JR., POHLMAN, T. H., JOHNSON, M. C. & VERRIER, E. D. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. [Revue] [62 refs]. *Annals of Thoracic Surgery* 1997; 63: 277-284.
381. MEDURI, G. U., HEADLEY, S., KOHLER, G., STENTZ, F., TOLLEY, E., UMBERGER, R. & LEEPER, K. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995; 107: 1062-1073.
382. MEDURI, G. U., KOHLER, G., HEADLEY, S., TOLLEY, E., STENTZ, F. & POSTLETHWAITE, A. Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS. Persistent elevation over time predicts poor outcome. *Chest* 1995; 108: 1303-1314.
383. SIMMONS, R. S., BERDINE, G. G., SEIDENFELD, J. J., PRIHODA, T. J., HARRIS, G. D., SMITH, J. D., GILBERT, T. J., MOTA, E. & JOHANSON, W. G., JR. Fluid balance and the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1987; 135: 924-929.
384. ROMASCHIN, A. D., DEMAJO, W. C., WINTON, T., D'COSTA, M., CHANG, G., RUBIN, B., GAMLIEL, Z. & WALKER, P. M. Systemic phospholipase A₂ and cachectin levels in adult respiratory distress syndrome and multiple-organ failure. *Clinical Biochemistry* 1992; 25: 55-60.
385. GROENEVELD, A. B., RAJMAKERS, P. G., HACK, C. E. & THIJS, L. G. Interleukin 8-related neutrophil elastase and the severity of the adult respiratory distress syndrome. *Cytokine*. 1995; 7: 746-752.
386. BAUGHMAN, R. P., GUNTER, K. L., RASHKIN, M. C., KEETON, D. A. & PATTISHALL, E. N. Changes in the inflammatory response of the

- lung during acute respiratory distress syndrome: prognostic indicators. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; **154**: 76-81.
387. VADAS, P., PRUZANSKI, W., STEFANSKI, E., RUSE, J., FAREWELL, V., MCLAUGHLIN, J. & BOMBARDIER, C. Concordance of endogenous cortisol and phospholipase A₂ levels in gram-negative septic shock: a prospective study. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine* 1988; **111**: 584-590.
388. SAKAMAKI, F., ISHIZAKA, A., HANDA, M., FUJISHIMA, S., URANO, T., SAYAMA, K., NAKAMURA, H., KANAZAWA, M., KAWASHIRO, T., KATAYAMA, M. & *ET AL.* Soluble form of P-selectin in plasma is elevated in acute lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; **151**: 1821-1826.
389. ROBBINS, R. A., RUSS, W. D., RASMUSSEN, J. K. & CLAYTON, M. M. Activation of the complement system in the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1987; **135**: 651-658.
390. LANGLEBEN, D., DEMAR-CHIE, M., LAPORTA, D., SPANIER, A. H., SCHLESINGER, R. D. & STEWART, D. J. Endothelin-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1993; **148**: 1646-1650.
391. QUINLAN, G. J., EVANS, T. W. & GUTTERIDGE, J. M. Oxidative damage to plasma proteins in adult respiratory distress syndrome. *Free Radical Research* 1994; **20**: 289-298.
392. GUTTERIDGE, J. M., MUMBY, S., QUINLAN, G. J., CHUNG, K. F. & EVANS, T. W. Pro-oxidant iron is present in human pulmonary epithelial lining fluid: implications for oxidative stress in the lung. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1996; **220**: 1024-1027.
393. WEILAND, J. E., DAVIS, W. B., HOLTER, J. F., MOHAMMED, J. R., DORINSKY, P. M. & GADEK, J. E. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance. *American Review of Respiratory Disease* 1986; **133**: 218-225.

394. SINCLAIR, D. G., BRAUDE, S., HASLAM, P. L. & EVANS, T. W. Pulmonary endothelial permeability in patients with severe lung injury. Clinical correlates and natural history. *Chest* 1994; 106: 535-539.
395. STEINBERG, K. P., MILBERG, J. A., MARTIN, T. R., MAUNDER, R. J., COCKRILL, B. A. & HUDSON, L. D. Evolution of bronchoalveolar cell populations in the adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 150: 113-122.
396. CLARK, J. G., MILBERG, J. A., STEINBERG, K. P. & HUDSON, L. D. Type III procollagen peptide in the adult respiratory distress syndrome. Association of increased peptide levels in bronchoalveolar lavage fluid with increased risk for death. *Annals of Internal Medicine* 1995; 122: 17-23.
397. JORENS, P. G., SIBILLE, Y., GOULDING, N. J., VAN OVERVELD, F. J., HERMAN, A. G., BOSSAERT, L., DE BACKER, W. A., LAUWERYS, R., FLOWER, R. J. & BERNARD, A. Potential role of Clara cell protein, an endogenous phospholipase A₂ inhibitor, in acute lung injury. *European Journal of Respiratory* 1995; 8: 1647-1653.
398. DOYLE, I. R., HERMANS, C., BERNARD, A., NICHOLAS, T. E. & BERSTEN, A. D. Clearance of Clara cell secretory protein 16 (CC16) and surfactant proteins A and B from blood in acute respiratory failure. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; 158: 1528-1535.
399. MEDURI, G. U., BELENCHIA, J. M., MASSIE, J. D., ELTORKY, M. & TOLLEY, E. A. The role of gallium-67 scintigraphy in diagnosing sources of fever in ventilated patients. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: 395-403.
400. CARVALHO, A. C. Blood alterations during ARDS. Dans *Acute respiratory failure* eds. ZAPOL, W. M. & FALKE, K. J. New York: Marcel Dekker. 1985; pp. 303-346.
401. IDELL, S., KOENIG, K. B., FAIR, D. S., MARTIN, T. R., MCLARTY, J. & MAUNDER, R. J. Serial abnormalities of fibrin turnover in evolving adult respiratory distress syndrome.

- American Journal of Physiology*.
1991; 261: L240-L248.
402. GANDO, S., NAKANISHI, Y. & TEDO, I. Cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 in posttrauma disseminated intravascular coagulation: relationship to multiple organ dysfunction syndrome. *Critical Care Medicine* 1995; 23: 1835-1842.
403. SHIMADA, Y., YOSHIYA, I., TANAKA, K., SONE, S. & SAKURAI, M. Evaluation of the progress and prognosis of adult respiratory distress syndrome. Simple respiratory physiologic measurement. *Chest* 1979; 76: 180-186.
404. GATTINONI, L., BOMBINO, M., PELOSI, P., LISSONI, A., PESENTI, A., FUMAGALLI, R. & TAGLIABUE, M. Lung structure and function in different stages of severe adult respiratory distress syndrome. *JAMA* 1994; 271: 1772-1779.
405. BROWN, S. D., CLARK, C. & GUTIERREZ, G. Pulmonary lactate release in patients with sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Journal of Critical Care* 1996; 11: 2-8.
406. KELLUM, J. A., KRAMER, D. J., MANKAD, S., BELLOMO, R., LEE, K. & PINSKY, M. R. Release of lactate by the lung in acute lung injury. *Advances in Experimental Medicine & Biology*. 1997; 411: 281-285.
407. BERNARD, G. R., LUCE, J. M., SPRUNG, C. L., RINALDO, J. E., TATE, R. M., SIBBALD, W. J., KARIMAN, K., HIGGINS, S., BRADLEY, R., METZ, C. A. & ET AL. High-dose corticosteroids in patients with the adult respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine* 1987; 317: 1565-1570.
408. MEDURI, G. U., ELTORKY, M. & WINER-MURAM, H. T. The fibroproliferative phase of late adult respiratory distress syndrome. [Revue] [118 refs]. *Seminars in Respiratory Infections*. 1995; 10: 154-175.
409. LOTZ, M. & GUERNE, P. A. Interleukin-6 induces the synthesis of tissue inhibitor of metalloproteinases-1/erythroid potentiating activity (TIMP-1/EPA). *Journal of Biological Chemistry*. 1991; 266: 2017-2020.

410. KROPF, J., GROBE, E., KNOCH, M., LAMMERS, M., GRESSNER, A. M. & LENNARTZ, H. The prognostic value of extracellular matrix component concentrations in serum during treatment of adult respiratory distress syndrome with extracorporeal CO₂ removal. *European Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry* 1991; 29: 805-812.
411. WAYDHAS, C., NASTKOLB, D., TRUPKA, A., LENK, S., DUSWALD, K. H., SCHWEIBERER, L. & JOCHUM, M. Increased serum concentrations of procollagen type III peptide in severely injured patients: an indicator of fibrosing activity? *Critical Care Medicine* 1993; 21: 240-247.
412. GOODMAN, R. B., STRIETER, R. M., MARTIN, D. P., STEINBERG, K. P., MILBERG, J. A., MAUNDER, R. J., KUNKEL, S. L., WALZ, A., HUDSON, L. D. & MARTIN, T. R. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; 154: 602-611.
413. DONNELLY, S. C., STRIETER, R. M., REID, P. T., KUNKEL, S. L., BURDICK, M. D., ARMSTRONG, I., MACKENZIE, A. & HASLETT, C. The association between mortality rates and decreased concentrations of interleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist in the lung fluids of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Annals of Internal Medicine* 1996; 125: 191-196.
414. PARSONS, P. E., MOSS, M., VANNICE, J. L., MOORE, E. E., MOORE, F. A. & REPI-NE, J. E. Circulating IL-1ra and IL-10 levels are increased but do not predict the development of acute respiratory distress syndrome in at-risk patients. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 155: 1469-1473.
415. IDELL, S. Extravascular coagulation and fibrin deposition in acute lung injury. [Revue] [91 refs]. *New Horizons*. 1994; 2: 566-574.
416. KOVACS, E. J. & DIPIETRO, L. A. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. [Revue] [78 refs]. *FASEB Journal*. 1994; 8: 854-861.

417. KOLLEF, M. H. & SCHUSTER, D. P. The acute respiratory distress syndrome. [Revue] [179 refs]. *New England Journal of Medicine* 1995; 332: 27-37.
418. FULKERSON, W. J., MACINTYRE, N., STAMLER, J. & CRAPO, J. D. Pathogenesis and treatment of the adult respiratory distress syndrome. [Revue] [182 refs]. *Archives of Internal Medicine* 1996; 156: 29-38.
419. SCHUSTER, D. P. & KOLLEF, M. H. Acute respiratory distress syndrome. [Revue] [180 refs]. *Disease-A-Month*. 1996; 42: 270-326.
420. DREYFUSS, D. & SAUMON, G. Role of tidal volume, FRC, and end-inspiratory volume in the development of pulmonary edema following mechanical ventilation. *American Review of Respiratory Disease*. 1993; 148: 1194-1203.
421. MUSCEDERE, J. G., MULLEN, J. B., GAN, K. & SLUTSKY, A. S. Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: 1327-1334.
422. DREYFUSS, D. & SAUMON, G. Should the lung be rested or recruited? The Charybdis and Scylla of ventilator management. [Éditorial]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: 1066-1067.
423. MARINI, J. J. Ventilation of the acute respiratory distress syndrome. Looking for Mr. Goodmode. [Éditorial]. [Revue] [30 refs]. *Anesthesiology* 1994; 80: 972-975.
424. SLUTSKY, A. S. Consensus conference on mechanical ventilation--28-30 janvier 1993 à Northbrook, Illinois, É-U-A. Part 2. [Revue] [158 refs]. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 150-162.
425. JENKINSON, S. G. Oxygen toxicity. [Revue] [36 refs]. *New Horizons*. 1993; 1: 504-511.
426. SLUTSKY, A. S. Mechanical ventilation. American College of Chest Physicians' Consensus Conference. [Revue] [158 refs]. *Chest* 1993; 104: 1833-1859.
427. GAMMON, R. B., SHIN, M. S. & BUCHALTER, S. E. Pulmonary barotrauma in mechanical

- ventilation. Patterns and risk factors. *Chest* 1992; 102: 568-572.
428. SNYDER, J. V. Ventilatory support: physiology and technique. Dans *Oxygen transport in the critically ill*. eds. SNYDER, J. V. & PINSKY, M. R. Chicago: Year Book Medical. 1987; pp. 358-370.
429. LEATHERMAN, J. W., LARI, R. L., IBER, C. & NEY, A. L. Tidal volume reduction in ARDS. Effect on cardiac output and arterial oxygenation. *Chest* 1991; 99: 1227-1231.
430. KIISKI, R., TAKALA, J., KARI, A. & MILIC-EMILI, J. Effect of tidal volume on gas exchange and oxygen transport in the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease*. 1992; 146: 1131-1135.
431. PEPE, P. E., HUDSON, L. D. & CARRICO, C. J. Early application of positive end-expiratory pressure in patients at risk for the adult respiratory-distress syndrome. *New England Journal of Medicine* 1984; 311: 281-286.
432. SPRINGER, R. R. & STEVENS, P. M. The influence of PEEP on survival of patients in respiratory failure: a retrospective analysis. *American Journal of Medicine* 1979; 66: 196-200.
433. ANONYME & AMERICAN ASSOCIATION OF RESPIRATORY CARE CONSENSUS GROUP. Positive end expiratory pressure. *Respiratory Care* 1988; 33: 419-527.
434. GATTINONI, L., PELOSI, P., CROTTI, S. & VALENZA, F. Effects of positive end-expiratory pressure on regional distribution of tidal volume and recruitment in adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 151: 1807-1814.
435. WEG, J. G., ANZUETO, A., BALK, R. A., WIEDEMANN, H. P., PATTISHALL, E. N., SCHORK, M. A. & WAGNER, L. A. The relation of pneumothorax and other air leaks to mortality in the acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 341-346.
436. BROCHARD, L., ROUDOT-THORAVAL, F. & COLLABORATIVE GROUP ON VT REDUCTION. Tidal volume

- (VT) reduction in acute respiratory distress syndrome (ARDS): a multicenter randomized study [Résumé]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 155: A505.
437. STEWART, T. E., MEADE, M. O., COOK, D. J., GRANTON, J. T., HODDER, R. V., LAPINSKY, S. E., MAZER, C. D., MCLEAN, R. F., ROGOVEIN, T. S., SCHOUTEN, B. D., TODD, T. R. & SLUTSKY, A. S. Evaluation of a ventilation strategy to prevent barotrauma in patients at high risk for acute respiratory distress syndrome. Pressure- and Volume-Limited Ventilation Strategy Group. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 355-361.
438. AMATO, M. B., BARBAS, C. S., MEDEIROS, D. M., MAGALDI, R. B., SCHETTINO, G. P., LORENZI-FILHO, G., KAIRALLA, R. A., DEHEINZELIN, D., MUNOZ, C., OLIVEIRA, R., TAKAGAKI, T. Y. & CARVALHO, C. R. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 347-354.
439. HUDSON, L. D. Protective ventilation for patients with acute respiratory distress syndrome. [Editorial]. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 385-387.
440. THARRATT, R. S., ALLEN, R. P. & ALBERTSON, T. E. Pressure controlled inverse ratio ventilation in severe adult respiratory failure. *Chest* 1988; 94: 755-762.
441. ABRAHAM, E. & YOSHIIHARA, G. Cardiorespiratory effects of pressure controlled inverse ratio ventilation in severe respiratory failure. *Chest* 1989; 96: 1356-1359.
442. LAIN, D. C., DIBENEDETTO, R., MORRIS, S. L., VAN NGUYEN, A., SAULTERS, R. & CAUSEY, D. Pressure control inverse ratio ventilation as a method to reduce peak inspiratory pressure and provide adequate ventilation and oxygenation. *Chest* 1989; 95: 1081-1088.
443. LESSARD, M. R., GUEROT, E., LORINO, H., LEMAIRE, F. & BROCHARD, L. Effects of pressure-controlled with different I:E ratios versus volume-controlled ventilation on respiratory mechanics, gas exchange, and hemodynamics in patients with adult respiratory distress

- syndrome. *Anesthesiology* 1994; 80: 983-991.
444. MERCAT, A., TITIRIGA, M., ANGUEL, N., RICHARD, C. & TEBOUL, J. L. Inverse ratio ventilation (I/E = 2/1) in acute respiratory distress syndrome: a six-hour controlled study. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1997; 155: 1637-1642.
445. ZAVALA, E., FERRER, M., POLESE, G., MASCLANS, J. R., PLANAS, M., MILIC-EMILI, J., RODRIGUEZ-ROISIN, R., ROCA, J. & ROSSI, A. Effect of inverse I:E ratio ventilation on pulmonary gas exchange in acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1998; 88: 35-42.
446. MARINI, J. J. Inverse ratio ventilation--simply an alternative, or something more?. [Éditorial]. *Critical Care Medicine* 1995; 23: 224-228.
447. COGHILL, C. H., HAYWOOD, J. L., CHATBURN, R. L. & CARLO, W. A. Neonatal pediatric high frequency ventilation: principles and practice. *Respiratory Care* 1991; 35: 596-612.
448. NAHUM, A., BURKE, W. C., RAVENSCRAFT, S. A., MARCY, T. W., ADAMS, A. B., CROOKE, P. S. & MARINI, J. J. Lung mechanics and gas exchange during pressure-control ventilation in dogs. Augmentation of CO₂ elimination by an intratracheal catheter. *American Review of Respiratory Disease*. 1992; 146: 965-973.
449. ZAPOL, W. M., SNIDER, M. T., HILL, J. D., FALLAT, R. J., BARTLETT, R. H., EDMUNDS, L. H., MORRIS, A. H., PEIRCE, E. C., THOMAS, A. N., PROCTOR, H. J., DRINKER, P. A., PRATT, P. C., BAGNIEWSKI, A. & MILLER, R. G., JR. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure. A randomized prospective study. *JAMA* 1979; 242: 2193-2196.
450. GATTINONI, L., PESENTI, A., MASCHERONI, D., MARCOLIN, R., FUMAGALLI, R., ROSSI, F., IAPICHINO, G., ROMAGNOLI, G., UZIEL, L., AGOSTONI, A. & ET AL. Low-frequency positive-pressure ventilation with extracorporeal CO₂ removal in severe acute respiratory failure. *JAMA* 1986; 256: 881-886.

451. BRUNET, F., BELGHITH, M., MIRA, J. P., LANORE, J. J., VAXELAIRE, J. F., DALL'AVA SANTUCCI, J. & DHAINAUT, J. F. Extracorporeal carbon dioxide removal and low-frequency positive-pressure ventilation. Improvement in arterial oxygenation with reduction of risk of pulmonary barotrauma in patients with adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1993; 104: 889-898.
452. MORRIS, A. H., WALLACE, C. J., MENLOVE, R. L., CLEMMER, T. P., ORME, J. F., JR., WEAVER, L. K., DEAN, N. C., THOMAS, F., EAST, T. D., PACE, N. L. & *ET AL.* Randomized clinical trial of pressure-controlled inverse ratio ventilation and extracorporeal CO₂ removal for adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: 295-305.
453. SMITH, R. B. Continuous flow apneic ventilation. *Respiratory Care* 1987; 32: 458-465.
454. GASCHE, Y., ROMAND, J. A., PRETTE, R. & SUTER, P. M. IVOX in ARDS: respiratory effects and serious complications. *European Respiratory Journal* 1994; 7: 821-823.
455. ALBERT, R. K. One good turn... [Editorial]. [Revue] [11 refs]. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 247-248.
456. HIRSCHL, R. B., PRANIKOFF, T., GAUGER, P., SCHREINER, R. J., DECHERT, R. & BARTLETT, R. H. Liquid ventilation in adults, children, and full-term neonates. *The Lancet* 1995; 346: 1201-1202.
457. KARIMAN, K. & BURNS, S. R. Regulation of tissue oxygen extraction is disturbed in adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1985; 132: 109-114.
458. DANEK, S. J., LYNCH, J. P., WEG, J. G. & DANTZKER, D. R. The dependence of oxygen uptake on oxygen delivery in the adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1980; 122: 387-395.
459. MOHSENI FAR, Z., GOLDBACH, P., TASHKIN, D. P. & CAMPISI, D. J. Relationship between O₂ delivery and O₂ consumption in the adult respi-

- ratory distress syndrome. *Chest* 1983; 84: 267-271.
460. RONCO, J. J., PHANG, P. T., WALLEY, K. R., WIGGS, B., FENWICK, J. C. & RUSSELL, J. A. Oxygen consumption is independent of changes in oxygen delivery in severe adult respiratory distress syndrome. *American Review of Respiratory Disease* 1991; 143: 1267-1273.
461. APPEL, P. L. & SHOEMAKER, W. C. Relationship of oxygen consumption and oxygen delivery in surgical patients with ARDS. *Chest* 1992; 102: 906-911.
462. SHOEMAKER, W. C., APPEL, P. L., KRAM, H. B., WAXMAN, K. & LEE, T. S. Prospective trial of supranormal values of survivors as therapeutic goals in high-risk surgical patients. *Chest* 1988; 94: 1176-1186.
463. HAYES, M. A., TIMMINS, A. C., YAU, E. H., PALAZZO, M., HINDS, C. J. & WATSON, D. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients. *New England Journal of Medicine* 1994; 330: 1717-1722.
464. GATTINONI, L., BRAZZI, L., PELOSI, P., LATINI, R., TOGNONI, G., PESENTI, A. & FUMAGALLI, R. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. SvO₂ Collaborative Group. *New England Journal of Medicine* 1995; 333: 1025-1032.
465. STELTZER, H., HIESMAYR, M., MAYER, N., KRAFFT, P. & HAMMERLE, A. F. The relationship between oxygen delivery and uptake in the critically ill: is there a critical or optimal therapeutic value? A meta-analysis. *Anaesthesia* 1994; 49: 229-236.
466. PINSKY, M. R. & MATUSCHAK, G. M. A unifying hypothesis of multiple systems organ failure: failure of host defense homeostasis. *Journal of Critical Care* 1990; 5: 108-114.
467. HUMPHREY, H., HALL, J., SZNAJDER, I., SILVERSTEIN, M. & WOOD, L. Improved survival in ARDS patients associated with a reduction in pulmonary capillary wedge pressure. *Chest* 1990; 97: 1176-1180.
468. MITCHELL, J. P., SCHUL-

- LER, D., CALANDRINO, F. S. & SCHUSTER, D. P. Improved outcome based on fluid management in critically ill patients requiring pulmonary artery catheterization. *American Review of Respiratory Disease* 1992; 145: 990-998.
469. SCHUSTER, D. P. Fluid management in ARDS: "keep them dry" or does it matter?. [Éditorial]. [Revue] [34 refs]. *Intensive Care Medicine* 1995; 21: 101-103.
470. COBB, D. K., HIGH, K. P., SAWYER, R. G., SABLE, C. A., ADAMS, R. B., LINDLEY, D. A., PRUETT, T. L., SCHWENZER, K. J. & FARR, B. M. A controlled trial of scheduled replacement of central venous and pulmonary-artery catheters. *New England Journal of Medicine* 1992; 327: 1062-1068.
471. MERMEL, L. A. & MAKI, D. G. Infectious complications of Swan-Ganz pulmonary artery catheters. Pathogenesis, epidemiology, prevention, and management. [Revue] [204 refs]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: 1020-1036.
472. GASTINNE, H., WOLFF, M., DELATOUR, F., FAURIS-SON, F. & CHEVRET, S. A controlled trial in intensive care units of selective decontamination of the digestive tract with nonabsorbable antibiotics. The French Study Group on Selective Decontamination of the Digestive Tract. *New England Journal of Medicine* 1992; 326: 594-599.
473. KOLLEF, M. H. Antibiotic use and antibiotic resistance in the intensive care unit: are we curing or creating disease?. [Revue] [63 refs]. *Heart & Lung* 1994; 23: 363-367.
474. TORRES, A., SERRA-BATLLES, J., ROS, E., PIERA, C., PUIG DE LA BELLACASA, J., COBOS, A., LOMENA, F. & RODRIGUEZ-ROISIN, R. Pulmonary aspiration of gastric contents in patients receiving mechanical ventilation: the effect of body position. *Annals of Internal Medicine* 1992; 116: 540-543.
475. KOLLEF, M. H. The role of selective digestive tract decontamination on mortality and respiratory tract infections. A meta-analysis. *Chest* 1994; 105: 1101-1108.
476. VALLÉS, J., ARTIGAS, A.,

- RELLO, J., BONSONS, N., FONTANALS, D., BLANCH, L., FERNANDEZ, R., BAI-GORRI, F. & MESTRE, J. Continuous aspiration of subglottic secretions in preventing ventilator-associated pneumonia. *Annals of Internal Medicine* 1995; **122**: 179-186.
477. ANONYME. Round table conference on metabolic support of the critically ill patients—20-22 mars 1993. *Intensive Care Medicine* 1994; **20**: 298-299.
478. KORETZ, R. L. Feeding controversies. Dans *Nutrition in critical care*, ed. ZALOGA, G. Missouri: Mosby. 1994; pp. 283-296.
479. WEISSMAN, C. & KEMPER, M. Metabolic measurements in the critically ill. [Revue] [121 refs]. *Critical Care Clinics*. 1995; **11**: 169-197.
480. ALEXANDER, J. W. Immuno-enhancement via enteral nutrition. [Revue] [20 refs]. *Archives of Surgery* 1993; **128**: 1242-1245.
481. SHOEMAKER, W. C., APPEL, P. L. & KRAM, H. B. Oxygen transport measurements to evaluate tissue perfusion and titrate therapy: dobutamine and dopamine effects. *Critical Care Medicine* 1991; **19**: 672-688.
482. COSENTINO, F., PAGANINI, E., LOCKREM, J., STOLLER, J. & WIEDEMANN, H. Continuous arteriovenous hemofiltration in the adult respiratory distress syndrome. A randomized trial. *Contributions to Nephrology*. 1991; **93**: 94-97.
483. WHEELER, A. P. Analgesia, sedation, and therapeutic paralysis in the critically ill. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 1997; **18**: 39-63.
484. NORTON, L. C., CHULAY, M., TYLER, M., HOFFMAN, L., ELPERN, E., LARSON, J., DULOCK, H., WILSON, D. & SHEKELTON, M. Common problems and state of the art in nursing care of the mechanically ventilated patient. *American Review of Respiratory Disease*. 1988; **138**: 1055-1056.
485. GREENMAN, R. L., SCHEIN, R. M., MARTIN, M. A., WENZEL, R. P., MACINTYRE, N. R., EMMANUEL, G., CHMEL, H., KOHLER, R. B., McCARTHY, M., PLOUFFE, J.

- & *ET AL.* A controlled clinical trial of E5 murine monoclonal IgM antibody to endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. The XOMA Sepsis Study Group. *JAMA* 1991; 266: 1097-1102.
486. ZIEGLER, E. J., FISHER, C. J., JR., SPRUNG, C. L., STRAUBE, R. C., SADOFF, J. C., FOULKE, G. E., WORTEL, C. H., FINK, M. P., DELLINGER, R. P., TENG, N. N. & *ET AL.* Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *New England Journal of Medicine* 1991; 324: 429-436.
487. FINK, M. P. Adoptive immunotherapy of gram-negative sepsis: use of monoclonal antibodies to lipopolysaccharide. [Revue] [73 refs]. *Critical Care Medicine* 1993; 21 (Suppl.): S32-S39.
488. TRACEY, K. J. & CERAMI, A. Tumor necrosis factor: an updated review of its biology. [Revue] [105 refs]. *Critical Care Medicine* 1993; 21 (Suppl.): S415-S422.
489. DHAINAUT, J. F., VINCENT, J. L., RICHARD, C., LEJEUNE, P., MARTIN, C., FIEROBE, L., STEPHENS, S., NEY, U. M. & SOPWITH, M. CDP571, a humanized antibody to human tumor necrosis factor-alpha: safety, pharmacokinetics, immune response, and influence of the antibody on cytokine concentrations in patients with septic shock. CPD571 Sepsis Study Group. *Critical Care Medicine* 1995; 23: 1461-1469.
490. ABRAHAM, E., WUNDE-RINK, R., SILVERMAN, H., PERL, T. M., NASRAWAY, S., LEVY, H., BONE, R., WENZEL, R. P., BALK, R., ALLRED, R. & *ET AL.* Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome. A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha MAb Sepsis Study Group. *JAMA* 1995; 273: 934-941.
491. FISHER, C. J., JR., OPAL, S. M., DHAINAUT, J. F., STEPHENS, S., ZIMMERMAN, J. L., NIGHTINGALE, P., HARRIS, S. J., SCHEIN, R. M., PANACEK, E. A., VINCENT, J. L. & *ET AL.* Influence of an

anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. The CB0006 Sepsis Syndrome Study Group. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 318-327.

492.

ABRAHAM, E., ANZUETO, A., GUTIERREZ, G., TESSLER, S., SANPEDRO, G., WUNDERINK, R., DALNOGARE, A., NASRAWAY, S., BERMAN, S., COONEY, R., LEVY, H., BAUGHMAN, R., RUMBAK, M., LIGHT, R. B., POOLE, L., ALLRED, R., CONSTANT, J., PENNINGTON, J. & PORTER, S. Double-blind randomised controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock. *The Lancet* 1998; 351: 929-933.

493.

FISHER, C. J., JR., DHAINAUT, J. F., OPAL, S. M., PRIBBLE, J. P., BALK, R. A., SLOTMAN, G. J., IBERTI, T. J., RACKOW, E. C., SHAPIRO, M. J., GREENMAN, R. L. & ET AL. Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase III rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group. *JAMA* 1994; 271: 1836-1843.

494.

OPAL, S. M., FISHER, C. J., JR., DHAINAUT, J. F., VINCENT, J. L., BRASE, R., LOWRY, S. F., SADOFF, J. C., SLOTMAN, G. J., LEVY, H., BALK, R. A., SHELLY, M. P., PRIBBLE, J. P., LABRECQUE, J. F., LOOKABAUGH, J., DONOVAN, H., DUBIN, H., BAUGHMAN, R., NORMAN, J., DEMARIA, E., MATZEL, K., ABRAHAM, E. & SENEFF, M. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 1115-1124.

495.

JEPSEN, S., HERLEVSEN, P., KNUDSEN, P., BUD, M. I. & KLAUSEN, N. O. Antioxidant treatment with *N*-acetylcysteine during adult respiratory distress syndrome: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Critical Care Medicine* 1992; 20: 918-923.

496.

SUTER, P. M., DOMENIGHETTI, G., SCHALLER, M. D., LAVERRIERE, M. C., RITZ, R. & PERRET, C. *N*-acetylcysteine enhances recovery from acute lung injury in

- man. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. *Chest* 1994; **105**: 190-194.
497. BERNARD, G. R., WHEELER, A. P., ARONS, M. M., MORRIS, P. E., PAZ, H. L., RUSSELL, J. A. & WRIGHT, P. E. A trial of antioxidants N-acetylcysteine and procysteine in ARDS. The Antioxidant in ARDS Study Group. *Chest* 1997; **112**: 164-172.
498. WOLF, H. R. & SEEGER, H. W. Experimental and clinical results in shock lung treatment with vitamin E. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1982; **393**: 392-410.
499. BERNARD, G. R. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. [Review] [22 refs]. *American Journal of Medicine* 1991; **91**: 54S-59S.
500. BONE, R. C., FISHER, C. J., JR., CLEMMER, T. P., SLO-TMAN, G. J. & METZ, C. A. Early methylprednisolone treatment for septic syndrome and the adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1987; **92**: 1032-1036.
501. LUCE, J. M., MONTGOMERY, A. B., MARKS, J. D., TURNER, J., METZ, C. A. & MURRAY, J. F. Ineffectiveness of high-dose methylprednisolone in preventing parenchymal lung injury and improving mortality in patients with septic shock. *American Review of Respiratory Disease* 1988; **138**: 62-68.
502. LEFERING, R. & NEUGEBAUER, E. A. M. Steroid controversy in sepsis and septic shock: A meta-analysis. *Critical Care Medicine* 1995; **23**: 1294-1303.
503. ASHBAUGH, D. G. & MAIER, R. V. Idiopathic pulmonary fibrosis in adult respiratory distress syndrome. Diagnosis and treatment. *Archives of Surgery* 1985; **120**: 530-535.
504. HOOPER, R. G. & KEARL, R. A. Established ARDS treated with a sustained course of adrenocortical steroids. *Chest* 1990; **97**: 138-143.
505. MEDURI, G. U., BELENCHIA, J. M., ESTES, R. J., WUNDERINK, R. G., EL TORKY, M. & LEEPER, K. V., JR. Fibroproliferative phase of ARDS. Clinical findings and

- effects of corticosteroids. *Chest* 1991; 100: 943-952.
506. MEDURI, G. U., CHINN, A. J., LEEPER, K. V., WUNDERINK, R. G., TOLLEY, E., WINER-MURAM, H. T., KHARE, V. & ELTORKY, M. Corticosteroid rescue treatment of progressive fibroproliferation in late ARDS. Patterns of response and predictors of outcome. *Chest* 1994; 105: 1516-1527.
507. HOOPER, R. G. & KEARL, R. A. Established adult respiratory distress syndrome successfully treated with corticosteroids. *Southern Medical Journal* 1996; 89: 359-364.
508. ALLEN, J. N., PACHT, E. R., GADEK, J. E. & DAVIS, W. B. Acute eosinophilic pneumonia as a reversible cause of non-infectious respiratory failure. *New England Journal of Medicine* 1989; 321: 569-574.
509. FORRESTER, J. M., STEELE, A. W., WALDRON, J. A. & PARSONS, P. E. Crack lung: an acute pulmonary syndrome with a spectrum of clinical and histopathologic findings. *American Review of Respiratory Disease* 1990; 142: 462-467.
510. SCHONFELD, S. A., PLOYSONGSANG, Y., DILISIO, R., CRISSMAN, J. D., MILLER, E., HAMMERSCHMIDT, D. E. & JACOB, H. S. Fat embolism prophylaxis with corticosteroids. A prospective study in high-risk patients. *Annals of Internal Medicine* 1983; 99: 438-443.
511. KALLENBACH, J., LEWIS, M., ZALTZMAN, M., FELDMAN, C., ORFORD, A. & ZWI, S. 'Low-dose' corticosteroid prophylaxis against fat embolism. *Journal of Trauma* 1987; 27: 1173-1176.
512. ANONYME. Consensus statement on the use of corticosteroids as adjunctive therapy for pneumocystis pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. The National Institutes of Health-University of California Expert Panel for Corticosteroids as Adjunctive Therapy for Pneumocystis Pneumonia. *New England Journal of Medicine* 1990; 323: 1500-1504.
513. BERNARD, G. R., REINES, H. D., HALUSHKA, P. V., HIGGINS, S. B., METZ, C. A., SWINDELL, B. B., WRIGHT, P. E., WATTS, F. L. &

- VRBANAC, J. J. Prostacyclin and thromboxane A₂ formation is increased in human sepsis syndrome. Effects of cyclooxygenase inhibition. *American Review of Respiratory Disease* 1991; 144: 1095-1101.
514. HAUPT, M. T., JASTREMSKI, M. S., CLEMMER, T. P., METZ, C. A. & GORIS, G. B. Effect of ibuprofen in patients with severe sepsis: a randomized, double-blind, multicenter study. The Ibuprofen Study Group. *Critical Care Medicine* 1991; 19: 1339-1347.
515. FLETCHER, J. R. & RAMWELL, P. W. Indomethacin improves survival after endotoxin in baboons. *Advances in Prostaglandin & Thromboxane Research* 1980; 7: 821-828.
516. SLOTMAN, G. J., BURCHARD, K. W., D'AREZZO, A. & GANN, D. S. Ketoconazole prevents acute respiratory failure in critically ill surgical patients. *Journal of Trauma* 1988; 28: 648-654.
517. YU, M. & TOMASA, G. A double-blind, prospective, randomized trial of ketoconazole, a thromboxane synthetase inhibitor, in the prophylaxis of the adult respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 1635-1642.
518. DHAINAUT, J. F., TENAILLON, A., LE TULZO, Y., SCHLEMMER, B., SOLET, J. P., WOLFF, M., HOLZAPFEL, L., ZENI, F., DREYFUSS, D., MIRA, J. P. & ET AL. Platelet-activating factor receptor antagonist BN 52021 in the treatment of severe sepsis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter clinical trial. BN 52021 Sepsis Study Group. *Critical Care Medicine* 1994; 22: 1720-1728.
519. FEIN, A. M., BERNARD, G. R., CRINER, G. J., FLETCHER, E. C., GOOD, J. T., JR., KNAUS, W. A., LEVY, H., MATUSCHAK, G. M., SHANIES, H. M., TAYLOR, R. W. & RODELL, T. C. Treatment of severe systemic inflammatory response syndrome and sepsis with a novel bradykinin antagonist, deltibant (CP-0127). Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CP-0127 SIRS and Sepsis Study Group. *JAMA* 1997; 277: 482-487.
520. HOLCROFT, J. W., VASSAR, M. J. & WEBER, C. J. Prostaglandin E₁ and survival in pa-

528. GREGORY, J. J., GADE, J. E., HYERS, T. M., CRIM, C., HUDSON, L. D., STEINBERG, K. P., MAUNDER, R., SPRAG, R. G., SMITH, R. M., TIERNEY, D. F., GIPE, G., LONGORE, W. J. & MOXLEY, M. E. Survanta supplementation in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS). [Résumé] *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: A567.
529. ABRAHAM, E., GLAUSER, M. P., BUTLER, T., GARBINO, J., GELMONT, D., LATTERE, P. F., KUDSK, K., BRUINING, H. A., OTTO, C., TOBIN, E., ZWINGELSTEIN, C., LESSLAUER, W. & LEIGHTON, A. p55 Tumor necrosis factor receptor fusion protein in the treatment of patients with severe sepsis and septic shock. A randomized controlled multicenter trial. Ro 45-2081 Study Group. *JAMA* 1997; 277: 1531-1538.
530. GRAU, G. E. & MAENNEL, D. N. TNF inhibition and sepsis – sounding a cautionary note. *Nature Medicine* 1997; 3: 1193-1195.
531. POWELL, R. J., MACHIEDO, G. W., RUSH, B. F., JR. & DIKDAN, G. Oxygen free radicals: effect on red cell deformability in sepsis. *Critical Care Medicine* 1991; 19: 732-735.
532. GONZALEZ, P. K., ZHUANG, J., DOCTROW, S. R., MALFROY, B., BENSON, P. F., MENCONI, M. J. & FINK, M. P. Role of oxidant stress in the adult respiratory distress syndrome: evaluation of a novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxin-induced acute lung injury. [Revue] [54 refs]. *Shock* 1996; 6 (Suppl.1): S23-S26.
533. BOLLAERT, P. E., CHARPENTIER, C., LEVY, B., DEBOUVERIE, M., AUDIBERT, G. & LARCAN, A. Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 645-650.
534. MEDURI, G. U. & KANANGAT, S. Glucocorticoid treatment of sepsis and acute respiratory distress syndrome – Time for a critical reappraisal. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 630-633.
535. BAMBERGER, C. M., SCHULTE, H. M. & CHROUSOS, G. P. Molecular determinants

- of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. [Revue] [216 refs]. *Endocrine Reviews*. 1996; 17: 245-261.
536. MEDURI, G. U., HEADLEY, S. & MONKEMULLER, K. Behavior of plasma interleukin-10 during the course of ARDS and in response to glucocorticoid treatment. [Résumé]. *Chest* 1997; 112: 57S.
537. COGGESHALL, J. W., CHRISTMAN, B. W., LEFFERTS, P. L., SERAFIN, W. E., BLAIR, I. A., BUTTERFIELD, M. J. & SNAPPER, J. R. Effect of inhibition of 5-lipoxygenase metabolism of arachidonic acid on response to endotoxemia in sheep. *Journal of Applied Physiology*. 1988; 65: 1351-1359.
538. WOLLERT, P. S., MENCONI, M. J., O'SULLIVAN, B. P., WANG, H., LARKIN, V. & FINK, M. P. LY255283, a novel leukotriene B4 receptor antagonist, limits activation of neutrophils and prevents acute lung injury induced by endotoxin in pigs. *Surgery* 1993; 114: 191-198.
539. BRIGHAM, K. L., CANONICO, A. E. & CONARY, J. T. Potential for gene therapy in the treatment of sepsis. Dans *Sepsis: Current perspectives in pathophysiology and therapy*. eds. REINHART, K., EYRICK, K. & SPRUNG, C. Berlin: Springer-Verlag. 1994; pp. 528-535.
540. FUJISHIMA, S. & AIKAWA, N. Neutrophil-mediated tissue injury and its modulation. [Revue] [75 refs]. *Intensive Care Medicine* 1995; 21: 277-285.
541. BONE, R. C. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 1125-1128.
542. VOLK, H. D., REINKE, P., FALCK, P., STAFFA, G., BRIEDIGKEIT, H. & VON BAEHR, R. Diagnostic value of an immune monitoring program for the clinical management of immunosuppressed patients with septic complications. *Clinical Transplantation* 1989; 3: 246-252.
543. VON BAEHR, R., LOHMANN, T., HEYM, S., REINKE, P., TAUSCH, W. & VOLK, H. D. Immunoparalysis in case of septicaemia. *Zeitschrift für Klinische Medizin* 1990; 45: 1133-1137.

544. VOLK, H. D., THIEME, M., HEYM, S., DÖCKE, W. D., RUPPE, U., TAUSCH, W., MANGER, D., ZUCKERMANN, S., GOLOSUBOW, A., NIETER, B. & *ET AL.* Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease—predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Institute Mitteilungen*. 1991; 208-215.
545. VOLK, H. D., LOHMANN, T., HEYM, S., REINKE, P., TAUSCH, W., DÖCKE, W. D., GOLOSUBOW, A. & VON BAEHR, R. Association between monocytic function and clinical outcome of sepsis. *Microbiologist* 1992; 3: 20-26.
546. HUMMEL, M., DÖCKE, W. D., FRIEDEL, N., VON BAEHR, R., HETZER, R. & VOLK, H. D. Monitoring of the cellular immune system in patients with biventricular assist devices awaiting cardiac transplantation. *Clinical Transplantation* 1994; 8: 59-66.
547. DÖCKE, W. D., SYRBE, U. & MEINECKE, A. Improvement of monocyte function: A new therapeutic approach?. Dans *Sepsis: Current perspectives in pathophysiology and therapy*. eds. REINHART, K., EYRICK, K. & SPRUNG, C. Berlin: Springer-Verlag. 1994; pp. 473-500.
548. SCHMAND, J. F., AYALA, A. & CHAUDRY, I. H. Effects of trauma, duration of hypotension, and resuscitation regimen on cellular immunity after hemorrhagic shock. *Critical Care Medicine* 1994; 22: 1076-1083.
549. MUNOZ, C., CARLET, J., FITTING, C., MISSET, B., BLERIOT, J. P. & CAVAILLON, J. M. Dysregulation of *in vitro* cytokine production by monocytes during sepsis. *Journal of Clinical Investigation*. 1991; 88: 1747-1754.
550. DECKER, D., SCHONDORF, M., BIDLINGMAIER, F., HIRNER, A. & VON RUECKER, A. A. Surgical stress induces a shift in the type-1/type-2 T-helper cell balance, suggesting down-regulation of cell-mediated and up-regulation of antibody-mediated immunity commensurate to the trauma. *Surgery* 1996; 119: 316-325.
551. HENSLER, T., HECKER, H., HEEG, K., HEIDECHE, C. D., BARTELS, H., BARTHELEN, W., WAGNER, H., SIEWERT, J. R. & HOLZMANN,

- B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infection & Immunity*. 1997; 65: 2283-2291.
552. PLATZER, C., MEISEL, C., VOGT, K., PLATZER, M. & VOLK, H. D. Up-regulation of monocytic IL-10 by tumor necrosis factor-alpha and cAMP elevating drugs. *International Immunology* 1995; 7: 517-523.
553. GENG, Y., GULBINS, E., ALTMAN, A. & LOTZ, M. Monocyte deactivation by interleukin 10 via inhibition of tyrosine kinase activity and the Ras signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994; 91: 8602-8606.
554. HEIDENREICH, S., SCHMIDT, M., AUGUST, C., CULLEN, P., RADEMAEKERS, A. & PAUELS, H. G. Regulation of human monocyte apoptosis by the CD14 molecule. *Journal of Immunology* 1997; 159: 3178-3188.
555. WARWICK-DAVIES, J., LOWRIE, D. B. & COLE, P. J. Selective deactivation of human monocyte functions by TGF-beta. *Journal of Immunology* 1995; 155: 3186-3193.
556. WALKER, T. M., BURGER, C. J. & ELGERT, K. D. Tumor growth alters T cell and macrophage production of and responsiveness to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: partial dysregulation through interleukin-10. *Cellular Immunology* 1994; 154: 342-357.
557. REINER, N. E. Altered cell signaling and mononuclear phagocyte deactivation during intracellular infection. [Review] [70 refs]. *Immunology Today* 1994; 15: 374-381.
558. KOX, W. J., BONE, R. C., KRAUSCH, D., DÖCKE, W. D., KOX, S. N., WAUER, H., EGERER, K., QUERNER, S., ASADULLAH, K., VON BAEHR, R. & VOLK, H. D. Interferon gamma-1b in the treatment of compensatory anti-inflammatory response syndrome. A new approach: proof of principle. *Archives of Internal Medicine* 1997; 157: 389-393.
559. HIRASAWA, H., SUGAI, T., OHTAKE, Y., ODA, S., MATSUDA, K. & KITAMURA, N. Blood purification for prevention and treatment of multiple

organ failure. [Revue] [15 refs]. *World Journal of Surgery* 1996; 20: 482-486.

560. VOLK, H. D., REINKE, P., KRAUSCH, D., ZUCKERMANN, H., ASADULLAH, K., MULLER, J. M., DÖCKE, W. D. & KOX, W. J. Monocyte deactivation - Rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. [Revue]. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: S474-S481.
561. FOITZIK, T. & RUNKEL, N. Intra-abdominal sepsis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1996; 9: 353-358.
562. STOLTZ, D. A., BAGBY, G. J. & NELSON, S. Use of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute infectious diseases. [Revue] [31 refs]. *Current Opinion in Hematology* 1997; 4: 207-212.
563. HARADA, M., AKASHI, K., HAYASHI, S., ETO, T., TAKAMATSU, Y., TESHIMA, T., HIROTA, Y., TANIGUCHI, S., NAGAFUJI, K., MIZUNO, S., GONDO, H. & NIHO, Y. Granulocyte colony-stimulating factor-combined marrow-ablative chemotherapy and autologous blood cell transplantation for the treatment of patients with acute myelogenous leukemia in first remission. *International Journal of Hematology* 1997; 66: 297-301.
564. NELSON, S. & BAGBY, G. J. Granulocyte colony-stimulating factor and modulation of inflammatory cells in sepsis. [Revue] [122 refs]. *Clinics in Chest Medicine* 1996; 17: 319-332.
565. DEBOISBLANC, B. P., MASON, C. M., ANDRESEN, J., LOGAN, E., BEAR, M. B., JOHNSON, S., SHELLITO, J., SUMMER, W. R. & NELSON, S. Phase 1 safety trial of filgrastim (R-METHUG-CSF) in non-neutropenic patients with severe community-acquired pneumonia. *Respiratory Medicine* 1997; 91: 387-394.
566. HEARD, S. O., FINK, M. P., GAMELLI, R. L., SOLOMKIN, J. S., JOSHI, M., TRASK, A. L., FABIAN, T. C., HUDSON, L. D., GEROLD, K. B. & LOGAN, E. D. Effect of prophylactic administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) on the frequency of nosocomial infections in patients with acute traumatic brain injury or cerebral hemorrhage. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 748-754.

567. ZENI, F., FREEMAN, B. & NATANSON, C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. [Éditorial]. [Revue] [38 refs]. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 1095-1100.
568. ESPOSITO, C., BANKS, S. M. & EICHACKER, P. Q. Prophylactic granulocyte colony-stimulating factor in critically ill patients - Not time yet. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 636-637.
569. CHOMARAT, P., RISSOAN, M. C., BANCHEREAU, J. & MIOSSEC, P. Interferon gamma inhibits interleukin 10 production by monocytes. *Journal of Experimental Medicine* 1993; 177: 523-527.
570. BORASCHI, D., CENSINI, S. & TAGLIABUE, A. Interferon-gamma reduces macrophage-suppressive activity by inhibiting prostaglandin E₂ release and inducing interleukin 1 production. *Journal of Immunology* 1984; 133: 764-768.
571. PHILIP, R. & EPSTEIN, L. B. Tumour necrosis factor as immunomodulator and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, gamma-interferon and interleukin-1. *Nature* 1986; 323: 86-89.
572. DÖCKE, W. D., RANDOW, F., SYRBE, U., KRAUSCH, D., ASADULLAH, K., REINKE, P., VOLK, H. D. & KOX, W. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nature Medicine* 1997; 3: 678-681.
573. MOSMANN, T. R. & MOORE, K. W. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. [Revue] [59 refs]. *Immunology Today* 1991; 12: A49-A53.
574. COCKFIELD, S. M., RAMASSAR, V., NOUJAIM, J., VAN DER MEIDE, P. H. & HALLORAN, P. F. Regulation of IFN-gamma expression in vivo. IFN-gamma up-regulates expression of its mRNA in normal and lipopolysaccharide-stimulated mice. *Journal of Immunology* 1993; 150: 717-725.
575. ANONYME. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group.

- New England Journal of Medicine* 1991; 324: 509-516.
576. POLK, H. C., JR., CHEADLE, W. G., LIVINGSTON, D. H., RODRIGUEZ, J. L., STAR-KO, K. M., IZU, A. E., JAFFE, H. S. & SONNENFELD, G. A randomized prospective clinical trial to determine the efficacy of interferon-gamma in severely injured patients. *American Journal of Surgery* 1992; 163: 191-196.
577. DRIES, D. J., JURKOVICH, G. J., MAIER, R. V., CLEMMER, T. P., STRUVE, S. N., WEIGELT, J. A., STANFORD, G. G., HERR, D. L., CHAMPION, H. R., LEWIS, F. R. & ET AL. Effect of interferon gamma on infection-related death in patients with severe injuries. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Archives of Surgery* 1994; 129: 1031-1041.
578. MOCK, C. N., DRIES, D. J., JURKOVICH, G. J. & MAIER, R. V. Assessment of two clinical trials: interferon-gamma therapy in severe injury. *Shock* 1996; 5: 235-240.
579. ROSSAINT, R., FALKE, K. J., LOPEZ, F., SLAMA, K., PISON, U. & ZAPOL, W. M. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine* 1993; 328: 399-405.
580. SAHEBJAMI, H. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. [Lettre]. *New England Journal of Medicine* 1993; 329: 206; discussion 207.
581. WATKINS, D. N., JENKINS, I. R., RANKIN, J. M. & CLARKE, G. M. Inhaled nitric oxide in severe acute respiratory failure--its use in intensive care and description of a delivery system. *Anaesthesia & Intensive Care* 1993; 21: 861-866.
582. GERLACH, H., PAPPERT, D., LEWANDOWSKI, K., ROSSAINT, R. & FALKE, K. J. Long-term inhalation with evaluated low doses of nitric oxide for selective improvement of oxygenation in patients with adult respiratory distress syndrome. *Intensive Care Medicine* 1993; 19: 443-449.
583. BIGATELLO, L. M., HURFORD, W. E., KACMAREK, R. M., ROBERTS, J. D., JR. & ZAPOL, W. M. Prolonged inhalation of low concentrations of nitric oxide in patients with

- severe adult respiratory distress syndrome. Effects on pulmonary hemodynamics and oxygenation. *Anesthesiology* 1994; 80: 761-770.
584. YOUNG, J. D., BRAMPTON, W. J., KNIGHTON, J. D. & FINFER, S. R. Inhaled nitric oxide in acute respiratory failure in adults. *British Journal of Anaesthesia* 1994; 73: 499-502.
585. FIEROBE, L., BRUNET, F., DHAINAUT, J. F., MONCHI, M., BELGHITH, M., MIRA, J. P., DALL'AVA-SANTUCCI, J. & DINH-XUAN, A. T. Effect of inhaled nitric oxide on right ventricular function in adult respiratory distress syndrome. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995; 151: 1414-1419.
586. ROSSAINT, R., SLAMA, K., STEUDEL, W., GERLACH, H., PAPPERT, D., VEIT, S. & FALKE, K. Effects of inhaled nitric oxide on right ventricular function in severe acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Medicine* 1995; 21: 197-203.
587. FROSTELL, C. G. Acute lung injury and inhaled NO. The reduction of pulmonary capillary pressure has implications for lung fluid balance. [Editorial]. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1994; 38: 623-624.
588. BENZING, A., BRAUTIGAM, P., GEIGER, K., LOOP, T., BEYER, U. & MOSER, E. Inhaled nitric oxide reduces pulmonary transvascular albumin flux in patients with acute lung injury. *Anesthesiology* 1995; 83: 1153-1161.
589. ROSSETTI, M., GUENARD, H. & GABINSKI, C. Effects of nitric oxide inhalation on pulmonary serial vascular resistances in ARDS. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; 154: 1375-1381.
590. ROBERTS, J. D. JR., ROBERTS, C. T., JONES, R. C., ZAPOL, W. M. & BLOCH, K. D. Continuous nitric oxide inhalation reduces pulmonary arterial structural changes, right ventricular hypertrophy, and growth retardation in the hypoxic newborn rat. *Circulation Research* 1995; 76: 215-222.
591. MIRA, J. P., MONCHI, M., BRUNET, F., FIEROBE, L., DHAINAUT, J. F. & DINH-XUAN, A. T. Lack of efficacy of inhaled nitric oxide in

- ARDS. [Lettre]. *Intensive Care Medicine* 1994; 20: 532.
592. LEVY, B., BOLLAERT, P. E. & LARCAN, A. Inhaled nitric oxide is often efficient in severe ARDS. [Lettre]. *Intensive Care Medicine* 1995; 21: 864.
593. McINTYRE, R. C., JR., MOORE, F. A., MOORE, E. E., PIEDALUE, F., HAENEL, J. S. & FULLERTON, D. A. Inhaled nitric oxide variably improves oxygenation and pulmonary hypertension in patients with acute respiratory distress syndrome. *Journal of Trauma*. 1995; 39: 418-425.
594. BENZING, A., LOOP, T., MOLS, G. & GEIGER, K. Effect of inhaled nitric oxide on venous admixture depends on cardiac output in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1996; 40: 466-474.
595. KRAFFT, P., FRIDRICH, P., FITZGERALD, R. D., KOC, D. & STELTZER, H. Effectiveness of nitric oxide inhalation in septic ARDS. *Chest* 1996; 109: 486-493.
596. LOWSON, S. M., RICH, G. F., MCARDLE, P. A., JAIDEV, J. & MORRIS, G. N. The response to varying concentrations of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesia & Analgesia*. 1996; 82: 574-581.
597. LUNDIN, S., NATHORST-WESTFELT, U., STENQVIST, O., BLOMQVIST, H., LINDH, A., BERGGREN, L., ARVIDSSON, S., RUDBERG, U. & FROSTELL, C. G. Response to nitric oxide inhalation in early acute lung injury. *Intensive Care Medicine* 1996; 22: 728-734.
598. BENZING, A., MOLS, G., BRIESCHAL, T. & GEIGER, K. Hypoxic pulmonary vasoconstriction in nonventilated lung areas contributes to differences in hemodynamic and gas exchange responses to inhalation of nitric oxide. *Anesthesiology* 1997; 86: 1254-1261.
599. BLANCH, L., JOSEPH, D., FERNANDEZ, R., MAS, A., MARTINEZ, M., VALLES, J., DIAZ, E., BAIGORRI, F. & ARTIGAS, A. Hemodynamic and gas exchange responses to inhalation of nitric oxide in patients with the acute respira-

- tory distress syndrome and in hypoxemic patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Intensive Care Medicine* 1997; 23: 51-57.
600. DOERING, E. B., HANSON, C. W., 3RD, REILY, D. J., MARSHALL, C. & MARSHALL, B. E. Improvement in oxygenation by phenylephrine and nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87: 18-25.
601. JOHANNIGMAN, J. A., DAVIS, K. JR., CAMPBELL, R. S., LUCHETTE, F., HURST, J. M. & BRANSON, R. D. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome. *Journal of Trauma*. 1997; 43: 904-909.
602. MOURGEON, E., PUYBASSET, L., LAW-KOUNE, J. D., LU, Q., ABDENNOUR, L., GALLART, L., MALASSINE, P., UMAMAHESWARA RAO, G. S., CLUZEL, P., BENNANI, A., CORIAT, P. & ROUBY, J.-J. Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome with and without septic shock requiring norepinephrine administration: a dose-response study. *Critical Care* 1997; 1: 25-39.
603. NATHORST-WESTFELT, U., LUNDIN, S. & STENQVIST, O. Uptake of inhaled nitric oxide in acute lung injury. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1997; 41: 818-823.
604. SHERIDAN, R. L., HURFORD, W. E., KACMAREK, R. M., RITZ, R. H., YIN, L. M., RYAN, C. M. & TOMPKINS, R. G. Inhaled nitric oxide in burn patients with respiratory failure. *Journal of Trauma*. 1997; 42: 629-634.
605. TREGGIARI-VENZI, M., RICOU, B., ROMAND, J. A. & SUTER, P. M. The response to repeated nitric oxide inhalation is inconsistent in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1998; 88: 634-641.
606. ROSSAINT, R., GERLACH, H., SCHMIDT-RUHNKE, H., PAPPERT, D., LEWANDOWSKI, K., STEUDEL, W. & FALKE, K. Efficacy of inhaled nitric oxide in patients with severe ARDS. *Chest* 1995; 107: 1107-1115.
607. LUHR, O., NATHORST-WESTFELT, U., LUNDIN, S., WICKERTS, C. J., STIERN-

- TRÖM, H., BERGGREN, L., AARDAL, S., JOHANSSON, L. A., STENQVIST, O., RUDBERG, U., LINDH, A., BINDSLEV, L., MARTLING, C. R., HORNBAEK, V. & FROSTELL, C. A retrospective analysis of nitric oxide inhalation in patients with severe acute lung injury in Sweden and Norway 1991-1994. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1997; 41: 1238-1246.
608. MANKTELOW, C., BIGATELLO, L. M., HESS, D. & HURFORD, W. E. Physiologic determinants of the response to inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome. *Anesthesiology* 1997; 87: 297-307.
609. MICHAEL, J. R., BARTON, R. G., SAFFLE, J. R., MONE, M., MARKEWITZ, B. A., HILLIER, K., ELSTAD, M. R., CAMPBELL, E. J., TROYER, B. E., WHATLEY, R. E., LIOU, T. G., SAMUELSON, W. M., CARVETH, H. J., HINSON, D. M., MORRIS, S. E., DAVIS, B. L. & DAY, R. W. Inhaled nitric oxide *versus* conventional therapy - Effect on oxygenation in ARDS. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; 157: 1372-1380.
610. JOHNSON, M. L. & BILLIAR, T. R. Roles of nitric oxide in surgical infection and sepsis. [Revue] [177 refs]. *World Journal of Surgery* 1998; 22: 187-196.
611. SHENEP, J. L. & TUOMANEN, E. Perspective: targeting nitric oxide in the adjuvant therapy of sepsis and meningitis. [Revue] [29 refs]. *Journal of Infectious Diseases* 1998; 177: 766-769.
612. PETROS, A., BENNETT, D. & VALLANCE, P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *The Lancet* 1991; 338: 1557-1558.
613. SCHNEIDER, F., LUTUN, P., HASSELMANN, M., STOCLET, J. C. & TEMPE, J. D. Methylene blue increases systemic vascular resistance in human septic shock. Preliminary observations. *Intensive Care Medicine* 1992; 18: 309-311.
614. BRONER, C. W., SHENEP, J. L., STOKES, D. C., FAIRCLOUGH, D., HILDNER, W. K., STORGION, S. A. & REHG, J. E. Reversal of dopamine-refractory septic shock by

- diethyldithiocarbamate, an inhibitor of endothelium-derived relaxing factor. *Journal of Infectious Diseases*. 1993; 167: 141-147.
615. SOUTHAN, G. J., ZINGARELLI, B., O'CONNOR, M., SALZMAN, A. L. & SZABÒ, C. Spontaneous rearrangement of aminoalkylisothioureas into mercaptoalkylguanidines, a novel class of nitric oxide synthase inhibitors with selectivity towards the inducible isoform. *British Journal of Pharmacology* 1996; 117: 619-632.
616. CUZZOCREA, S., ZINGARELLI, B., HAKE, P., SALZMAN, A. L. & SZABÒ, C. Anti-inflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radical Biology & Medicine* 1998; 24: 450-459.
617. LEIB, S. L., KIM, Y. S., BLACK, S. M., TUREEN, J. H. & TAUBER, M. G. Inducible nitric oxide synthase and the effect of aminoguanidine in experimental neonatal meningitis. *Journal of Infectious Diseases*. 1998; 177: 692-700.
618. OFFNER, P. J., OGURA, H., JORDAN, B. S., PRUITT, B. A., JR. & CIOFFI, W. G. Cardiopulmonary effects of combined nitric oxide inhibition and inhaled nitric oxide in porcine endotoxic shock. *Journal of Trauma* 1996; 41: 641-646.
619. EICHACKER, P. Q. Inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome: do we know the risks versus benefits?. [Editorial]. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 563-565.
620. FREEMAN, B. D., CORREA, R., KARZAI, W., NATANSON, C., PATTERSON, M., BANKS, S., FITZ, Y., DANNER, R. L., WILSON, L. & EICHACKER, P. Q. Controlled trials of rG-CSF and CD11b-directed MAb during hyperoxia and E. coli pneumonia in rats. *Journal of Applied Physiology*. 1996; 80: 2066-2076.
621. SHEEHY, A. M., BURSON, M. A. & BLACK, S. M. Nitric oxide exposure inhibits endothelial NOS activity but not gene expression - A rôle for superoxide. *American Journal of Physiology - Lung Cellular & Molecular Physiology*. 1998; 18: L833-L841.

622. IVY, D. D., KINSELLA, J. P., ZIEGLER, J. W. & ABMAN, S. H. Dipyridamole attenuates rebound pulmonary hypertension after inhaled nitric oxide withdrawal in postoperative congenital heart disease. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1998; **115**: 875-882.
623. KOLLEF, M. H. Inhaled nitric oxide for severe acute respiratory distress syndrome: a blessing or a curse?. *Heart & Lung* 1997; **26**: 358-362.
624. MILLER, O. I., TANG, S. F., KEECH, A. & CELERMAYER, D. S. Rebound pulmonary hypertension on withdrawal from inhaled nitric oxide. [Letter]. *The Lancet* 1995; **346**: 51-52.
625. LAVOIE, A., HALL, J. B., OLSON, D. M. & WYLAM, M. E. Life-threatening effects of discontinuing inhaled nitric oxide in severe respiratory failure. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1996; **153**: 1985-1987.
626. ZAPOL, W. M. Minidose inhaled nitric oxide: less is better. [Éditorial]. *Intensive Care Medicine* 1993; **19**: 433-434.
627. SWART, M. & SMITHIES, M. Nitric oxide in the acute respiratory distress syndrome. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 1995; **39**: 69-74.
628. BIGATELLO, L. M., HURFORD, W. E. & HESS, D. Use of inhaled nitric oxide for ARDS. [Revue] [100 refs]. *Respiratory Care Clinics of North America* 1997; **3**: 437-458.
629. ZAPOL, W. M. Nitric oxide inhalation in acute respiratory distress syndrome: it works, but can we prove it?. [Éditorial]. *Critical Care Medicine* 1998; **26**: 2-3.
630. PAYEN, D. M. Is nitric oxide inhalation a cosmetic therapy in acute respiratory distress syndrome?. [Éditorial]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1998; **157**: 1361-1362.
631. RICOU, B. & SUTER, P. M. Variable effects of nitric oxide (NO) in ARDS patients. [Résumé]. *American Review of Respiratory Disease* 1993; **147**: A350.
632. ROUPIE, E., WYSOCKI, M., LANGERON, O., DELC-

- LAUX, C., HERMAN, B., LEMAIRE, F. & BROCHARD, L. Effects of inhaled nitric oxide (NO) on oxygenation and hemodynamic parameters in the acute respiratory distress syndrome (ARDS). Responders versus non responders?. [Résumé]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: A424.
633. MONCHI, M., FIEROBE, L., MIRA, J. P., BELGHITH, M., RENAUD, B., BRUNET, F., DHAINAUT, J. F. & DINH-XUAN, A. T. Predictive factors of inhaled nitric oxide inefficiency in ARDS patients. [Résumé]. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1994; 149: A423.
634. MARSHALL, B. E. & MARSHALL, C. The influence of nitric oxide in adult respiratory distress syndrome when PvO_2 is varied. [Éditorial]. *Anesthesiology* 1997; 86: 1228-1230.
635. KRAUSE, M. & HOHN, T. Inhaled nitric oxide (NO) in neonates - Responders and non-responders - A review. [Revue] [Allemand]. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 1996; 144: 1352-1356.
636. HOLZMANN, A., BLOCH, K. D., SANCHEZ, L. S., FILIPPOV, G. & ZAPOL, W. M. Hyporesponsiveness to inhaled nitric oxide in isolated, perfused lungs from endotoxin-challenged rats. *American Journal of Physiology* 1996; 271: L981-L986.
637. PEARL, R. G. Phenylephrine and inhaled nitric oxide in adult respiratory distress syndrome. When are two better than one?. [Éditorial]. [Revue] [16 refs]. *Anesthesiology* 1997; 87: 1-3.
638. MATTHAY, M. A., PITTET, J. F. & JAYR, C. Just say NO to inhaled nitric oxide for the acute respiratory distress syndrome. [Éditorial]. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 1-2.
639. DEMIRAKÇA, S., DOTSCHE, J., KNOTHE, C., MAGSAAM, J., REITER, H. L., BAUER, J. & KUEHL, P. G. Inhaled nitric oxide in neonatal and pediatric acute respiratory distress syndrome: dose response, prolonged inhalation, and weaning. *Critical Care Medicine* 1996; 24: 1913-1919.
640. DAY, R. W., ALLEN, E. M. & WITTE, M. K. A randomized, controlled study of the 1-hour and 24-hour effects of inhaled nitric oxide therapy in children

- with acute hypoxemic respiratory failure. *Chest* 1997; 112: 1324-1331.
641. HOFFMAN, G. M., ROSS, G. A., DAY, S. E., RICE, T. B. & NELIN, L. D. Inhaled nitric oxide reduces the utilization of extracorporeal membrane oxygenation in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Critical Care Medicine* 1997; 25: 352-359.
642. KINSELLA, J. P. & ABMAN, S. H. Controversies in the use of inhaled nitric oxide therapy in the newborn. [Lettre]. *Clinics in Perinatology*. 1998; 25: 203.
643. MUPANEMUNDA, R. H. Current status of inhaled nitric oxide therapy in the perinatal period. [Revue] [72 refs]. *Early Human Development* 1997; 47: 247-262.
644. CRAIG, J. & MULLINS, D. Nitric oxide inhalation in infants and children: physiologic and clinical implications. [Revue] [47 refs]. *American Journal of Critical Care* 1995; 4: 443-450.
645. SADAOKI, K., MASAHIRO, S., TOSHIHIKO, M., YASUAKI, N. & YUSAKU, T. Effect of nitric oxide on oxygenation and hemodynamics in infants after cardiac surgery. *Artificial Organs* 1997; 21: 14-16.
646. GAMILLSCHEG, A., ZOBEL, G., URLESBERGER, B., BERGER, J., DACAR, D., STEIN, J. I., RIGLER, B., METZLER, H. & BEITZKE, A. Inhaled nitric oxide in patients with critical pulmonary perfusion after Fontan-type procedures and bidirectional Glenn anastomosis. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 1997; 113: 435-442.
647. ZOBEL, G., GAMILLSCHEG, A., SCHWINGER, W., BERGER, J., URLESBERGER, B., DACAR, D., RIGLER, B., METZLER, H. & BEITZKE, A. Inhaled nitric oxide in infants and children after open heart surgery. *Journal of Cardiovascular Surgery* 1998; 39: 79-86.
648. CARMONA, M. J. C. & AU-LER, J. O. C. Effect of inhaled nitric oxide on respiratory system mechanics hemodynamics and gas exchange after cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic & Vascular Anesthesia*. 1998; 12: 157-161.

649. MACDONALD, P. S., KEOGH, A., MUNDY, J., ROGERS, P., NICHOLSON, A., HARRISON, G., JANSZ, P., KAAAN, A. M. & SPRATT, P. Adjunctive use of inhaled nitric oxide during implantation of a left ventricular assist device. *Journal of Heart & Lung Transplantation* 1998; 17: 312-316.
650. ARGENZIANO, M., CHOU DHRI, A. F., MOAZAMI, N., ROSE, E. A., SMITH, C. R., LEVIN, H. R., SMERLING, A. J. & OZ, M. C. Randomized, double-blind trial of inhaled nitric oxide in LVAD recipients with pulmonary hypertension. *Annals of Thoracic Surgery* 1998; 65: 340-344.
651. EYER, K. C., LOVE, R. B. & ZIMMERMAN, J. J. The therapeutic potential of nitric oxide in lung transplantation. [Review]. *Chest* 1998; 113: 1360-1371.