

## **Raccomandazioni sulla terapia con ossido nitrico per via inalatoria (iNO) nel neonato e nel bambino**

Duncan J. Macrae, David Field, Jean-Christophe Mercier, Jens Møller, Tom Stiris, Paolo Biban, Paul Cornick, Allan Goldman, Sylvia Göthberg, Lars E. Gustafsson, Jürg Hammer, Per-Arne Lönnqvist, Manuel Sanchez-Luna, Gunnar Sedin and Nim Subhedar (2004) "**Consensus Conference: Inhaled nitric oxide therapy in neonates and children: reaching a European Consensus**" *ICM*, 30: 372-380

### **Introduzione**

L'ossido nitrico per via inalatoria (iNO) è stato utilizzato in Europa fin dal 1992 per il trattamento di diverse patologie, tra cui l'ipertensione polmonare persistente del neonato (PPHN), che rimane ad oggi una delle patologie più critiche in terapia intensiva neonatale [1,2].

Per lungo tempo, la somministrazione di iNO a scopo terapeutico non è stata sottoposta ad alcuna regolamentazione, per cui è stato utilizzato gas di tipo industriale anche per uso umano. I risultati ottenuti da studi clinici sull'utilizzo dell'iNO nel trattamento di neonati a termine affetti da grave insufficienza respiratoria, hanno condotto alla registrazione di un farmaco sia negli Stati Uniti che in Europa per il trattamento dell'ipertensione polmonare del neonato con età gestazionale  $\geq 34$  settimane. Tuttavia, tale indicazione terapeutica risulta essere assai limitata in relazione all'utilizzo ben più ampio che ne viene fatto da anni. Per tale motivo, un gruppo di specialisti con esperienza clinica nella terapia con iNO ha realizzato un Consensus Meeting sull'uso dell'iNO sia per approfondirne le modalità di utilizzo nell'indicazione ufficiale che per valutarne ulteriori potenziali indicazioni in neonatologia e pediatria.

### **Metodi**

Il programma scientifico del meeting è stato coordinato da un Advisory Board composto da esperti nel trattamento con iNO, costituitosi sotto l'egida della European Society of Paediatric and Neonatal Intensive Care, in collaborazione con la European Society of Paediatric Research e la European Society of Neonatology. Oltre ai membri dell'Advisory Board, hanno partecipato al Consensus anche altri esperti europei nel campo della terapia intensiva neonatale e pediatrica.

Diverse argomenti relativi all'utilizzo dell'iNO in neonatologia e pediatria sono stati quindi presentati nel corso del Consensus meeting, discussi e rielaborati prima di arrivare alla formulazione delle seguenti raccomandazioni pubblicate nell'articolo "**Consensus Conference: Inhaled nitric oxide therapy in neonates and children: reaching a European Consensus**" pubblicato nel 2004 sull'*Intensive Care Medicine Journal*.

## **Risultati**

### ***L'ossido nitrico per via inalatoria nei neonati a termine e quasi a termine.***

L'ipossiemia neonatale può essere causata dalla presenza di shunt intra-polmonari, shunt extra-polmonari (ipertensione polmonare persistente del neonato, PPHN) o da cardiopatie congenite di tipo cianotizzante.

La somministrazione di iNO risulta ottimale nel trattamento di neonati affetti da PPHN, mentre risulta inefficace in bambini affetti da cardiopatie cianotizzanti.

Si è visto inoltre che la risposta alla terapia con iNO nei bambini affetti da insufficienza respiratoria ipossiémica migliora ottimizzando il reclutamento alveolare [2]. Il trattamento con surfattante esogeno e con supporto ventilatorio [3] dovrebbe pertanto essere utilizzato per ottimizzare il volume polmonare prima di iniziare la terapia con iNO. Se lo stato cianotico persiste anche dopo le manovre di reclutamento alveolare, occorre effettuare un'ecocardiografia per escludere la presenza di cardiopatie congenite cianotizzanti.

Diversi studi condotti sull'efficacia dell'iNO nel trattamento del neonato a termine o quasi a termine affetto da insufficienza respiratoria ipossiémica hanno dimostrato un miglioramento dell'outcome dovuto principalmente alla ridotta necessità di ricorso all'ECMO, mentre l'incidenza di mortalità non risulta essere ridotta [5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15].

Due degli studi analizzati [6,11] includevano anche un sottogruppo di pazienti affetti da ernia congenita diaframmatica. Da uno di questi studi è stata presentata un'analisi separata [17] che non ha mostrato alcun miglioramento dell'outcome di questi bambini dopo trattamento con iNO, anche se si sono osservati transitori miglioramenti nell'ossigenazione.

Solo uno degli studi ha preso in considerazione il follow-up a lungo termine per valutare lo sviluppo neuronale dei pazienti sottoposti al trattamento con iNO [18]. In questo studio l'incidenza di disabilità, sordità e indici di sviluppo risultarono paragonabili tra il gruppo trattato con iNO e quello trattato con placebo [18].

I principali studi randomizzati e controllati sull'uso di iNO in neonati a termine o quasi a termine hanno utilizzato esami ecocardiografici per escludere cardiopatie congenite come causa di ipertensione polmonare prima del trattamento con iNO. Tali bambini non traggono alcun vantaggio dal trattamento con iNO dato che lo stato cianotico è dovuto a shunt extra-polmonari. Può addirittura essere pericoloso somministrare iNO a neonati affetti da cardiopatie congenite, come nel caso di ostruzione del circolo venoso polmonare totale o di disfunzione ventricolare sinistra grave con shunt destro-sinistro del dotto [19], in cui una vasodilatazione polmonare indotta dall'iNO aumenterebbe il precarico sinistro.

### ***Dose e risposta al trattamento con iNO in neonati a termine o quasi a termine.***

Un miglioramento dell'ossigenazione del 20% rispetto ai valori iniziali dopo 30-60min dalla somministrazione di iNO è stato usato in molti studi come indicatore di risposta precoce al trattamento con iNO [5,6,7,9,11,12].

Quattro degli studi pubblicati hanno riportato dati relativi alla dose ottimale [7,20,21,22], che suggeriscono concentrazioni efficaci di iNO  $\leq$  30ppm. Dosi superiori (fino a 80-100ppm) sembrano non determinare alcun miglioramento dell'ossigenazione rispetto a quello raggiunto a 20-30ppm. Nello studio NINOS [11] è stata utilizzata una dose iniziale di 20ppm di iNO, ma alcuni pazienti che non rispondevano completamente alla terapia vennero trattati con 80ppm, di cui solo il 6% rispose alla dose più elevata.

Nello studio pubblicato da Tworetzky et Al. si osservò una riduzione massima della pressione arteriosa polmonare a dosi di 20 ppm, mentre il massimo livello di ossigenazione si osservò già a 5ppm [23].

Nei "responders" la risposta all'iNO si osserva di solito rapidamente, anche se, in alcuni casi, sono stati osservati miglioramenti clinici solo alcune ore dopo la somministrazione di iNO [24]. Tuttavia, ritardare il ricorso all'ECMO in neonati con ipossiemia grave in attesa di una risposta tardiva all'iNO può mettere a rischio la vita dei pazienti.

In assenza di un miglioramento dell'ossigenazione entro 4 ore dall'inizio del trattamento con iNO, si consiglia pertanto di trasferire il neonato a un'unità di terzo livello.

Non sono stati individuati studi che stabiliscano il regime ottimale per il mantenimento della terapia con iNO dopo che sia stata osservata una risposta iniziale al trattamento. Nella pratica clinica si cerca comunque di ridurre l'esposizione all'iNO diminuendone la dose non appena il paziente si sia stabilizzato con un miglioramento dell'ossigenazione. Questo approccio è stato descritto da Kinsella et Al. [28] nei primi studi clinici sull'NO e confermato successivamente da Clark et Al. [6].

### ***Svezzamento e interruzione della terapia***

Esistono alcune indicazioni sulle modalità di svezzamento da iNO in risposta a miglioramento clinico. In uno studio prospettico Demirakca et Al. hanno valutato la risposta clinica all'iNO in neonati e bambini affetti da sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) [21] interrompendo la terapia al raggiungimento di una condizione respiratoria stabile (PEEP $<$ 6 cmH<sub>2</sub>O, I:E=1:2, FiO<sub>2</sub> $<$ 0.8 e iNO = 5ppm). Un indice d'ossigenazione OI $<$ 5 indicava il successo dello svezzamento [21].

Aly et Al. [29] adottarono una strategia di svezzamento in bambini affetti da PPHN diminuendo la dose di 5ppm a scalare. La terapia con iNO veniva sospesa quando il paziente risultava stabile con una  $FiO_2 < 0.5$ . In 9 casi su 16, si riuscì a svezzare con successo al primo tentativo. Negli altri casi, segni di peggioramento (crollo della saturazione dell'O<sub>2</sub> > 10% o al di sotto dell'85%) portarono a ristabilire la terapia con iNO per 30 min. Si aumentò quindi la  $FiO_2$  di 0.4 e si riuscì quindi a svezzare con successo. E' interessante osservare che la  $FiO_2$  poteva quindi essere riportata a valori pre-svezzamento in poche ore.

Sokol et Al. [30] notarono un significativo peggioramento della PaO<sub>2</sub> in alcuni bambini anche nella sospensione della terapia da 1 a 0 ppm, suggerendo che iNO risulta fisiologicamente attivo anche a concentrazioni molto basse.

E' tuttora in fase di valutazione il ruolo di altri vasodilatatori come l'epoprostenolo, l'iloprost, antagonisti delle endoteline, o inibitori selettivi delle fosfodiesterasi [31] nella fase di svezzamento da iNO in terapie abbastanza lunghe da generare down-regulation nell'NO sintetasi.

### **Tossicità**

L'ossido nitrico reagisce con l'ossigeno formando biossido d'azoto (NO<sub>2</sub>) un composto molto reattivo e tossico la cui esposizione deve pertanto essere ridotta al minimo. Nelle esposizioni prolungate si può osservare danno polmonare a concentrazioni di NO<sub>2</sub> = 0.5 ppm ed effetti letali acuti a concentrazioni di 100 ppm. L'inalazione nell'uomo di 2-3 ppm di NO<sub>2</sub> per 5 ore ha dimostrato una riduzione delle difese antiossidanti ed un'aumentata permeabilità capillare [32]. Dall'NO<sub>2</sub> si formano anche altri composti reattivi come i perossinitriti, composti tossici che danneggiano il DNA, aumentando il rischio di mutagenesi.

Tuttavia le concentrazioni di NO e NO<sub>2</sub> alle quali sono normalmente esposti i pazienti e il personale rientrano nei limiti di esposizione occupazionale stabiliti per legge [33]. Non esiste finora alcuna prova sull'esistenza di effetti avversi legati all'inalazione di NO.

L'NO assunto per via inalatoria si lega rapidamente all'emoglobina, formando la metemoglobina (MetHb), che riduce la capacità del sangue di trasportare O<sub>2</sub>.

In alcuni casi, durante la terapia con NO, si è osservata una riduzione dell'attività piastrinica [34], anche se esistono pareri discordi [35]. Negli studi condotti sui neonati non sono state comunque osservate differenze significative nel gruppo trattato con NO rispetto a quello sottoposto a trattamento con placebo [4].

### **Somministrazione e monitoraggio**

Per garantire la sicurezza del paziente e del personale, i sistemi di somministrazione di NO dovrebbero avere le seguenti caratteristiche:

- erogare concentrazioni costanti di NO nella miscela di gas inspirato dal paziente indipendentemente dalle modalità ed impostazioni del ventilatore,
- assicurare un rapido mescolamento dei gas e ridurre al massimo il contatto di NO con l'O<sub>2</sub>, minimizzando la formazione di NO<sub>2</sub> [36,37,38].
- mostrare la pressione del gas contenuto nelle bombole al fine di poter sostituire le bombole rapidamente senza dover interrompere la terapia.
- essere fornito di una batteria di riserva in caso di interruzione dell'erogazione di corrente elettrica o qualora fosse necessario il trasporto del paziente.
- Essere fornito di un sistema di erogazione manuale di riserva in caso di guasto al ventilatore o per altre indicazioni che richiedano la ventilazione manuale, in quanto l'interruzione della terapia con iNO mette a rischio la salute del paziente [36,37,39].

Per ragioni di sicurezza, è inoltre raccomandabile l'utilizzo di gas di tipo farmaceutico, in bombole ed a concentrazioni approvate dalla legge.

Il monitoraggio di iNO ed NO<sub>2</sub> può essere effettuato con sistemi elettrochimici o a chemiluminescenza. Tuttavia i sistemi a chemiluminescenza presentano diversi inconvenienti, come il costo elevato, la necessità di prelevare elevati campioni di gas, la rumorosità, la necessità di calibrazioni frequenti e l'inaccuratezza nella misurazione dei livelli di NO<sub>2</sub> dovuta all'effetto "quencing" [37]. Gli analizzatori di tipo elettrochimico sono economici, silenziosi, facili da calibrare, richiedono ridotti volumi di campioni di gas e molti di questi sistemi sono portatili. I sistemi elettrochimici sono tuttavia poco sensibili (capacità di risoluzione di 0.5 ppm) e le misurazioni possono essere influenzate dalla temperatura, pressione e umidità o dalla presenza di altri gas nell'ambiente [37].

La formazione di NO<sub>2</sub> nel circuito inspiratorio deve essere minimizzata. L'evidenza sia clinica che sperimentale ha dimostrato che è possibile somministrare 20 ppm di iNO mantenendo i livelli di NO<sub>2</sub> < 0.2 ppm [38]. Inoltre, l'NO<sub>2</sub> inalato è ridotto del 50% nella trachea grazie alle vie aeree superiori.

L'ossido nitrico viene fornito per uso clinico da diverse aziende sotto forma di gas compresso diluito in azoto in concentrazioni da 100 a 1000 ppm, in bombole di alluminio riempite ad una pressione di 150-200 bar. Miscele troppo concentrate possono risultare difficili da somministrare accuratamente mentre miscele poco concentrate possono ridurre eccessivamente la FiO<sub>2</sub> [41].

La disponibilità di iNO come prodotto farmaceutico in Europa garantisce la standardizzazione della terapia in termini di sicurezza per il paziente ed il personale.

## ***Sicurezza ambientale***

Il National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) americano suggerisce un Limite di Esposizione per l'NO<sub>2</sub> di 5 ppm e di 25 ppm per l'NO in un turno di lavoro di 8 ore [33]. Diverse nazioni europee hanno fissato il limite di esposizione dell'NO<sub>2</sub> a 2 ppm. Riportando questi dati ad una terapia intensiva, dove l'NO viene utilizzato per un periodo di 24 ore, sarebbe consigliabile tenere i valori ambientali di NO<sub>2</sub> sotto 1.5 ppm. Esistono due vie di contaminazione ambientale durante la terapia con NO: il gas di scarto del ventilatore o perdite accidentali di gas concentrato dal sistema di somministrazione o dalle bombole. L'FDA americano sottolinea che *“l'uso clinico dell'NO non ha alcun effetto significativo sull'ambiente e che pertanto non sono richieste né una valutazione ambientale, né una dichiarazione di impatto ambientale”* [42]. Stessa cosa per il National Health Service britannico che dichiara che l'evacuazione dell'NO non è necessaria, sempre che l'areazione del reparto segua gli standard specificati dalle normative vigenti nei singoli Paesi [43]. Diversi studi sperimentali confermano queste affermazioni [44,45].

Esiste tuttavia un rischio, sebbene ridotto, del rilascio incontrollato nell'ambiente di elevate quantità di gas concentrato dalla bombola in caso di errore od incidente. Per questo motivo si suggerisce di provvedere al monitoraggio dei livelli ambientali di NO<sub>2</sub>.

## ***Trasporto***

Esiste una percentuale di pazienti che non risponde alla terapia con NO in termini di ossigenazione che è pari a circa il 30-50% dei bambini trattati. [4]. Questi pazienti sono candidati potenziali all'ECMO. Dato che l'interruzione improvvisa della terapia con NO può essere associata ad un'ipossiemia di rimbalzo, anche in bambini che apparentemente rispondono poco alla terapia [46,47], occorre provvedere al trasferimento di questi pazienti ad un centro ECMO senza interrompere la terapia con NO.

Durante il trasporto, occorre tener presente sia la sicurezza del paziente, che quella del personale all'interno dei mezzi di trasporto in conformità alle norme vigenti.

In uno studio condotto recentemente da Kinsella et Al. vengono riportate le concentrazioni di NO ed NO<sub>2</sub> all'interno dell'abitacolo di diversi mezzi di trasporto durante l'utilizzo di iNO; tali valori risultano di entità trascurabile. Inoltre sono stati calcolati gli effetti dello svuotamento incontrollato di una bombola di NO da 2 L contenente 350 L di NO. Le concentrazioni di NO anche in questo caso hanno difficilmente raggiunto livelli pericolosi (40ppm di NO in aereo, 34 ppm in ambulanza e 94 ppm in un piccolo elicottero) [48]. Il gruppo di esperti raccomanda comunque che il sistema di somministrazione e monitoraggio dell'NO utilizzato per il

trasporto sia conforme agli standard per le apparecchiature medicali ed ai requisiti di sicurezza dei mezzi di trasporto utilizzati. Diversi sistemi di erogazione sono stati testati durante il trasporto e almeno due di questi sono disponibili in commercio, uno dei quali è disegnato appositamente per il trasporto [48].

### ***Training per il personale***

L'utilizzo clinico dell'NO presenta rischi potenziali per il paziente e per il personale, dovuti principalmente alla possibile esposizione a livelli tossici di NO e NO<sub>2</sub>, ma anche all'uso di bombole di gas. L'utilizzo sicuro ed appropriato di apparecchiature medicali richiede un'adeguata preparazione e training. Si raccomanda pertanto, anche da un punto di vista regolatorio, un training adeguato per l'utilizzo di apparecchiature medicali, sia teorico che pratico [49]. Le linee guida americane sull'utilizzo dell'iNO nel neonato raccomandano un training rivolto al personale medico [50] e alcuni autori suggeriscono anche un training per gli infermieri [51]. Si consiglia anche la compilazione di protocolli o linee guida sull'uso dell'iNO, considerando tutti gli aspetti, compresa la dichiarazione di responsabilità per l'utilizzo in indicazioni off-label. Tali protocolli possono così contribuire ad una somministrazione efficace e sicura dell'iNO [52].

### ***Uso dell'iNO nel pretermine***

Il neonato pretermine (<34 settimane di gestazione) non può essere sottoposto ad ECMO [53].

L'iNO può migliorare l'ossigenazione nei neonati pre-termine con insufficienza respiratoria ipossiémica attraverso due meccanismi: (1) contrastando lo shunt dx-sin extra-polmonare diminuendo selettivamente le resistenze polmonari (PVR) e (2) riducendo lo shunt intra-polmonare (e/o migliorando il V/Q) ridistribuendo il flusso polmonare nelle aree meglio ventilate. Il primo meccanismo sembra essere più importante in neonati con PPHN primitiva o secondaria del neonato a termine o quasi a termine, mentre il secondo sarebbe maggiormente implicato nei neonati pretermine, nei quali la patologia parenchimale è la principale responsabile dell'insufficienza respiratoria ipossiémica.

Esistono tre studi controllati randomizzati sull'uso dell'iNO nel prematuro [14,54,55], che hanno coinvolto 207 neonati e i cui risultati sono stati raccolti in due pubblicazioni [53,56]. Altri studi, sono ancora in corso o sono appena terminati, per cui i risultati non sono ancora disponibili. Uno studio riporta informazioni anche sul follow-up, in termini di sviluppo neuronale dopo la terapia con iNO [57]. Nello studio condotto da Kinsella et Al. [55] i neonati affetti da insufficienza respiratoria ipossiémica sono stati arruolati in uno stadio precoce della

malattia, l'outcome principale era l'incidenza sulla mortalità, non è stato fatto alcun crossover con iNO e si è valutata l'incidenza di emorragia intraventricolare (IVH). Non è stata evidenziata alcuna azione dell'iNO sulla mortalità o sulla malattia polmonare cronica (CLD) a 36 settimane, o sulla sopravvivenza senza CLD. Dosi di NO comprese tra 5 e 20 ppm sembrano migliorare l'ossigenazione arteriosa entro le prime 2 ore di trattamento. Lo studio ha evidenziato una riduzione dei giorni di ventilazione con 5 ppm di iNO nei sopravvissuti [55], mentre un altro studio non ha evidenziato alcuna differenza [14].

Mancano comunque dati sufficienti per valutare i possibili effetti dell'iNO sull'emorragia periventricolare o sullo sviluppo neuronale a lungo termine.

Con i dati disponibili, non si consiglia l'utilizzo standardizzato dell'iNO nel pretermine e se ne raccomanda l'uso in questa tipologia di paziente solo in studi clinici controllati. Può essere tuttavia considerata una terapia d'emergenza in caso di ipossiemia grave dopo aver ottimizzato il reclutamento polmonare.

### ***Uso pediatrico dell'iNO nell'ALI e ARDS***

Il danno polmonare acuto (ALI) o la sindrome da distress respiratorio acuta (ARDS) sono il risultato di diversi meccanismi patologici e riguardano pazienti di tutte le età. Le raccomandazioni sull'ALI e sull'ARDS in pediatria si basano su un numero limitato di informazioni [59], dato che la maggior parte dei dati sull'uso clinico dell'iNO in queste patologie riguarda il paziente adulto [58, 59, 60, 61, 62]. Non esiste alcuna terapia che possa migliorare la sopravvivenza nell'ALI. L'iNO viene utilizzato in questa indicazione al fine di migliorare il rapporto ventilazione perfusione (V/Q) e quindi l'ossigenazione, ma non riduce l'incidenza di mortalità. Uno studio ha dimostrato che l'iNO determina un temporaneo miglioramento dell'ossigenazione nelle prime 24 ore di trattamento [58]. Non si hanno risultati significativi su altri indicatori di efficacia, come durata di ospedalizzazione o di ricovero in terapia intensiva. Non sono state riportate complicazioni riconducibili al trattamento.

In base ai risultati riportati dagli studi, si può concludere che l'iNO non ha alcun effetto in termini di incidenza sulla mortalità in pazienti affetti da ALI o ARDS anche se ne migliora temporaneamente l'ossigenazione.

### ***Utilizzo dell'iNO in cardiocirurgia pediatrica***

L'ipertensione polmonare è un problema importante in molti bambini affetti da cardiopatie congenite o acquisite. L'iNO come vasodilatatore polmonare selettivo può pertanto migliorare la condizione di questi pazienti. Sono stati riportati diversi studi sull'utilizzo dell'iNO in tali pazienti tra cui l'uso nei test di reversibilità dell'ipertensione polmonare come procedura diagnostica [64,65], nella trattamento perioperatoria dell'ipertensione polmonare o nella riduzione del postcarico ventricolare destro [66,67,68]. La terapia con iNO si è dimostrata efficace nel trattamento di episodi acuti di ipertensione polmonare grave di tipo reattivo a seguito di interventi di cardiocirurgia [69,70]. In questa tipologia di pazienti, l'iNO sembrerebbe sopperire alla produzione endogena di NO, temporaneamente sospesa durante il bypass cardiopolmonare. Uno studio ha dimostrato come il trattamento profilattico con 10ppm di iNO sia associato ad una significativa riduzione degli episodi di ipertensione polmonare e del periodo di intubazione del paziente, anche se mortalità e durata di ricovero in terapia intensiva non sembrano variare. Un altro studio tuttavia non mostrò alcuna efficacia dell'uso profilattico dell'iNO [72]. Sembra che il trattamento con iNO migliori lo stato emodinamico di pazienti sottoposti ad intervento di Fontan con elevate resistenze polmonari [73] e di quelli affetti da insufficienza ventricolare destra [74], anche se non esistono studi clinici controllati e randomizzati per questa tipologia di pazienti.

Data la carenza di studi clinici nel paziente pediatrico affetto da cardiopatie congenite o acquisite, non è possibile per ora trarre conclusioni che confermino evidenza scientifica sull'efficacia del trattamento con iNO in questa tipologia di paziente. Sono quindi necessari altri studi clinici prima di poter raccomandarne l'utilizzo profilattico postoperatorio in bambini a rischio di crisi ipertensive polmonari a seguito di interventi cardiocirurgici. Tuttavia l'esperienza clinica suggerisce di somministrare una dose di 20ppm di iNO per 10 minuti in pazienti con ipertensione polmonare significativa sviluppatasi nel corso dell'intervento, aumentando la dose a 40 ppm in assenza di risposta alla dose precedente. Si suggerisce quindi di continuare la somministrazione di iNO solo in presenza di un miglioramento emodinamico. Se non si osserva alcun miglioramento anche alla dose di 40ppm, si consiglia di interrompere la terapia.

### Members of the Consensus Group

**Belgium:** B. van Overmeire, Antwerp. **Finland:** M. Hallman, Oulu; S. Andersson, Helsinki. **France:** T. Lacaze, Clamart; C. Danan, Creteil; J.-M. Hoscoet, Nancy; J.-C. Roze, Nancy; D. Devictor, Paris; J.C. Mercier, Paris. **Germany:** S. Demirakca, Mannheim; B. Roth, Koln; W. Kachel, Heilbronn; K. Bauer, Berlin; J. Møller, Saarbrücken. **Greece:** T. Hatzis, Athens. **Italy:** F. Mosca, Milan; M. Somaschini, Sierate; D. Trevisanuto, Padova; P. Tagliabue, Monza; P. Biban, Verona. **Netherlands:** D. Tibboel, Rotterdam; J. Latour, Amsterdam. **Norway:** S. Sponheim, Oslo; T. Stiris, Oslo. **Portugal:** G. Rodriguez, Lisbon; F. Simoes, Lisbon. **Spain:** P. Rodriguez, Madrid; M. Sanchez-Luna, Madrid; J. Figueras-Aloy, Barcelona; A. Valls-I-Soler, Bilbao. **Sweden:** S. Göthberg, Gothenburg; L.E. Gustafsson, Stockholm; B. Jonson, Stockholm; P.A. Lönnqvist, Stockholm; G. Sedin, Uppsala. **Switzerland:** J. Hammer, Basel; J.-F. Tolsa, Lausanne; M. Berner, Geneva. **United Kingdom:** P. Cornick, Leicester; D. Field, Leicester; N. Subhedar, Liverpool; A. Goldman, London; A. Greenough, London; D.J. Macrae, London; S. Sinha, Middlesbrough; H. Halliday, Belfast. **Slovenia:** J. Primozic, Ljubljana. **USA:** D. Wessel, Boston.

### References

1. Walsh-Sukys MC, Tyson JE, Wright LL, Bauer CR, Korones SB, Stevenson DK, Verter J, Stoll BJ, Lemons JA, Papile LA, Shankaran S, Donovan EF, Oh W, Ehrenkranz RA, Fanaroff AA (2000) Persistent pulmonary hypertension of the newborn in the era before nitric oxide: practice variation and outcomes. *Pediatrics* 105:14-20
2. Kinsella JP, Abman SH (1996) Clinical pathophysiology of persistent pulmonary hypertension of the newborn and the role of inhaled nitric oxide therapy. *J Perinatol* 16:524-27
3. Kinsella JP, Abman SH (2000) Clinical approach to inhaled nitric oxide therapy in the newborn with hypoxemia. *J Pediatr* 136:717-726
4. Finer NN, Barrington KJ (2000) Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Database Syst Rev* CD000399
5. Barefield ES, Karle VA, Phillips JB 3rd, Carlo WA (1996) Inhaled nitric oxide in term infants with hypoxemic respiratory failure. *J Pediatr* 129:279-286
6. Clark RH, Kueser TJ, Walker MW, Southgate WM, Huckaby JL, Perez JA, et al. (2000) Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. Clinical Inhaled Nitric Oxide Research Group. *N Engl J Med* 342:469-474
7. Davidson D, Barefield ES, Kattwinkel J, Dudell G, Damask M, Straube R, Rhines J, Chang CT (1998) Inhaled nitric oxide for the early treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn: a randomized, doublemasked, placebo-controlled, dose-response, multicenter study. *Pediatrics* 101:325-334
8. Christou H, Van Marter LJ, Wessel DL, Allred EN, Kane JW, Thompson JE, Stark AR, Kourembanas S (2000) Inhaled nitric oxide reduces the need for extracorporeal membrane oxygenation in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Crit Care Med* 28:3722-3727
9. Day RW, Lynch JM, White KS, Ward RM (1996) Acute response to inhaled nitric oxide in newborns with respiratory failure and pulmonary hypertension. *Pediatrics* 98:698-705
10. Kinsella JP, Truog WE, Walsh WF, Goldberg RN, Bancalari E, Mayock DE, Redding GJ, de Lemos RA, Sardesai S, McCurnin DC, Moreland SG, Cutter GR, Abman SA (1997) Randomized, multicenter trial of inhaled nitric oxide and high-frequency oscillatory ventilation in severe, persistent pulmonary hypertension of the newborn. *J Pediatr* 131:55-62
11. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group (NINOS) (1997) Inhaled nitric oxide in full-term and nearly fullterm infants with hypoxic respiratory failure. *N Engl J Med* 336:597-604

12. Roberts JD Jr, Fineman JR, Morin FC 3rd, Shaul PW, Rimar S, Schreiber MD, Polin RA, Zwass MS, Zayek MM, Gross I, Heymann MA, Zapol WM (1997) Inhaled nitric oxide and persistent pulmonary hypertension of the newborn. The Inhaled Nitric Oxide Study Group. *N Engl J Med* 336:605-610
13. Wessel DL, Adatia I, Van Marter LJ, Thompson JE, Kane JW, Stark AR, Kourembanas S (1997) Improved oxygenation in a randomized trial of inhaled nitric oxide for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 100:E7
14. The Franco-Belgium Collaborative NO Trial Group (1999) Early compared with delayed inhaled nitric oxide in moderately hypoxaemic neonates with respiratory failure: a randomised controlled trial. *Lancet* 354:1066-1071
15. Cornfield DN, Maynard RC, deRegnier RA, Guiang SF 3rd, Barbato JE, Milla CE (1999) Randomized, controlled trial of low-dose inhaled nitric oxide in the treatment of term and near-term infants with respiratory failure and pulmonary hypertension. *Pediatrics* 104:1089-1094
16. Sadiq F (1998) Illinois multicenter trial. Treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn with inhaled nitric oxide: a randomised trial. *Pediatr Res* 43:192A
17. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group (NINOS) (1997) Inhaled nitric oxide and hypoxic respiratory failure in infants with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatrics* 99:838-845
18. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group (NINOS) (2000) Inhaled nitric oxide in term and near-term infants: neurodevelopmental follow-up of the neonatal inhaled nitric oxide study group (NINOS). *J Pediatr* 136:611-617
19. Henrichsen T, Goldman AP, Macrae DJ (1996) Inhaled nitric oxide can cause severe systemic hypotension. *J Pediatr* 129:183
20. Finer NN, Etches PC, Kamstra B, Tierney AJ, Peliowski A, Ryan CA (1994) Inhaled nitric oxide in infants referred for extracorporeal membrane oxygenation: dose response. *J Pediatr* 124:302-308
21. Demirakca S, Dotsch J, Knothe C, Magsaam J, Reiter HL, Bauer J, Kuehl PG (1996) Inhaled nitric oxide in neonatal and pediatric acute respiratory distress syndrome: dose response, prolonged inhalation and weaning. *Crit Care Med* 24:1913-1919
22. LBnnqvist PA, Winberg P, Lundell B, Sellden H, Olsson GL (1994) Inhaled nitric oxide in neonates and children with pulmonary hypertension. *Acta Paediatr* 83:1132-1136
23. Tworetzky W, Bristow J, Moore P, Brook MM, Segal MR, Brasch-RC, Hawgood S, Fineman JR (2001) Inhaled nitric oxide in neonates with persistent pulmonary hypertension. *Lancet* 357:118-120
24. Goldman AP, Tasker RC, Haworth SG, Sigston PE, Macrae DJ (1996) Four patterns of response to inhaled nitric oxide for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 98:706-713
25. Dotsch J, Demirakca S, Zepf K, Hanze J, Parida S, Rascher W (2000) Recovery from withdrawal of inhaled nitric oxide and kinetics of nitric oxide-induced inhibition of nitric oxide synthase activity in vitro. *Intensive Care Med* 26:330-335
26. Black SM, Heidersbach RS, McMullan DM, Bekker JM, Johengen MJ, Fineman JR (1999) Inhaled nitric oxide inhibits NOS activity in lambs: potential mechanism for rebound pulmonary hypertension. *Am J Physiol* 277:H1849-H1856
27. Petros AJ (1994) Down-regulation of endogenous nitric oxide production after prolonged administration. *Lancet* 344: 191
28. Kinsella JP, Neish SR, Shaffer E, Abman SH (1992) Low-dose inhalation nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340:819-820
29. Aly H, Salmi R, Wung JT (1997) Weaning strategy with inhaled nitric oxide treatment in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 76:F118-F122 30.
30. Sokol GM, Fineberg NS, Wright LL, Ehrenkranz RA (2001) Changes in arterial oxygen tension when weaning neonates from inhaled nitric oxide. *Pediatr Pulmonol* 32:14-19

31. Atz AM, Wessel DL (1999) Sildenafil ameliorates effects of inhaled nitric oxide withdrawal. *Anesthesiology* 91:307-310
32. Rasmussen TR, Kjaergaard SK, Tarp U, Pedersen OF (1992) Delayed effects of NO<sub>2</sub> exposure on alveolar permeability and glutathione peroxidase in healthy humans. *Am Rev Respir Dis* 146:654-659
33. Anonymous (1988) Recommendations for occupational safety and health standards. *MMWR* 37:1-29
34. Gries A, Herr A, Motsch J, Holzmann A, Weimann J, Taut F, Erbe N, Bode C, Martin E (2000) Randomized, placebocontrolled, blinded and cross-matched study on the antiplatelet effect of inhaled nitric oxide in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 83:309-315
35. Albert J, Norman M, Wallén NH, Frostell C, Hjemdahl P (1999) Inhaled nitric oxide does not influence bleeding time or platelet function in healthy volunteers. *Eur J Clin Invest* 29:953-959
36. Miller OI, Celermajer DS, Deanfield JE, Macrae DJ (1994) Guidelines for the safe administration of inhaled nitric oxide. *Arch Dis Child* 70:F47-F49
37. Francoe M, Troncy E, Blaise G (1998) Inhaled nitric oxide: technical aspects of administration and monitoring. *Crit Care Med* 26:782-796
38. Schedin U, Frostell CG, Gustafsson LE (1999) Formation of nitrogen dioxide from nitric oxide and their measurement in clinically relevant circumstances. *Br J Anaesth* 82:182-192
39. Kirmse M, Hess D, Fujino Y, Kakmarek RM, Hurford WE (1998) Delivery of inhaled nitric oxide using the INOvent delivery system. *Chest* 113:1650-1657
40. Stenqvist O, Kjelltoft B, Lundin S (1993) Evaluation of a new system for ventilatory administration of nitric oxide. *Acta Anaesth Scand* 37:687-691
41. Lindwall R, Frostell CG, Ldnnqvist PA (2002) Delivery characteristics of a combined nitric oxide continuous positive airway pressure system. *Paediatr Anaesth* 12(6):530-536
42. Anonymous (2000) Classification of nitric oxide administration apparatus, nitric oxide analysers and nitrogen dioxide analysers. H Final Rule. *Fed Regist* 65:11464-11465
43. Squire S (1996) An effective method of scavenging nitric oxide (with personal communication from NHS Estates). *Br J Anaesth* 77:432-434
44. Phillips ML, Hall TA, Sekar K, Tomey JL (1999) Assessment of medical personnel exposure to nitrogen oxides during inhaled nitric oxide treatment of neonatal and pediatric patients. *Pediatrics* 104:1095-1100
45. Goldman AP, Cook PD, Macrae DJ (1995) Exposure of intensive-care staff to nitric oxide and nitrogen dioxide. *Lancet* 345:199-200
46. Kinsella JP, Neish SR, Ivy DD, Shaffer E, Abman SH (1993) Clinical responses to prolonged treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn with low doses of inhaled nitric oxide. *J Pediatr* 123:103-108
47. Kinsella JP, Schmidt JM, Griebel J, Abman SH (1995) Inhaled nitric oxide treatment for stabilization and emergency medical transport of critically ill newborns and infants. *Pediatrics* 95:773-776
48. Kinsella JP, Griebel J, Schmidt JM, Abman SH (2002) Use of inhaled nitric oxide during interhospital transport of newborns with hypoxemic respiratory failure. *Pediatrics* 109:158-161
49. Anonymous (2000) Equipped to care. The safe use of medical devices in the 21st century. Medical Devices Agency, London
50. Anonymous (1999) Use of inhaled nitric oxide. *Pediatrics* 106:344-345
51. Noel S (1999) Nitric oxide at work in the intensive care unit; implications for nursing practice. *Nurs Crit Care* 4:249-255
52. Glynn G (1999) Nitric oxide: a nursing experience. *J Neonatal Nurs* 5:11-14
53. Barrington KJ, Finer NN (2001) Inhaled nitric oxide for respiratory failure in preterm infants (Cochrane Review). *Cochrane Database Syst Rev* 4

54. Subhedar NV, Ryan SW, Shaw NJ (1997) Open randomised controlled trial of inhaled nitric oxide and early dexamethasone in high risk preterm infants. *Arch Dis Child* 77:F185-F190
55. Kinsella JP, Walsh WF, Bose CL, Gerstmann DR, Labelle JJ, Sardesai S, Walsh-Sukys MC, McCaffrey MJ, Cornfield DN, Bhutani VK, Cutter GR, Baier M, Abman SA (1999) Inhaled nitric oxide in premature neonates with severe hypoxaemic respiratory failure: a randomised controlled trial. *Lancet* 354:1061-1065
56. Hoehn T, Krause MF, Buhner C (2000) Inhaled nitric oxide in premature infants-a meta-analysis. *J Perinat Med* 28:7-13
57. Bennett AJ, Shaw NJ, Gregg JE, Subhedar NV (2001) Neurodevelopmental outcome in high-risk preterm infants treated with inhaled nitric oxide. *Acta Paediatr* 90:573-576
58. Dellinger RP, Zimmerman JL, Taylor RW, Straube RC, Hauser DL, Criner GJ, Davis K Jr, Hyers TM, Papadakos P (1998) Effects of inhaled nitric oxide in patients with acute respiratory distress syndrome: results of a randomized phase II trial. *Crit Care Med* 26:15-23
59. Dobyns EL, Cornfield DN, Anas NG, Fortenberry JD, Tasker RC, Lynch A, Liu P, Eells PL, Griebel J, Baier M, Kinsella JP, Abman SH (1999) Multicenter randomized-controlled trial of the effects of inhaled nitric oxide therapy on gas exchange in children with acute hypoxaemic respiratory failure. *J Pediatr* 134:406-412
60. Lundin S, Mang H, Smithies M, Stenqvist O, Frostell C (1999) Inhalation of nitric oxide in acute lung injury: results of a European multicentre study. The European Study Group of Inhaled Nitric Oxide. *Intensive Care Med* 25:911-919
61. Troncy E, Collet J-P, Shapiro S, Guimond JG, Blair L, Ducruet T, Francoeur M, Scharbonneau M, Blaise G (1998) Inhaled nitric oxide in acute respiratory distress syndrome: A pilot randomized controlled study. *Am J Respir Crit Care Med* 157:1483-1488
62. Michael JR, Barton G, Saffle JR, Mone M, Markewitz BA, Hillier K, Elstad MR, Campbell EJ, Troyer BE, Whatley RE, Liou TG, Samuelson WM, Carveth HJ, Hinson DM, Morris SE, Davies BL, Day RW (1998) Inhaled nitric oxide versus conventional therapy: effect on oxygenation in ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 157:1372-1380
63. Sokol J, Jacobs SE, Bohn D (2000) Inhaled nitric oxide for acute hypoxemic respiratory failure in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* CD002787
64. Wessel DL, Adatia I, Giglia TM, Thompson JE, Kulik TJ (1993) Use of inhaled nitric oxide and acetylcholine in the evaluation of pulmonary hypertension and endothelial function after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 88:2128-2138
65. Adatia I, Perry S, Landzberg M, Moore P, Thompson JE, Wessel DL (1995) Inhaled nitric oxide and hemodynamic evaluation of patients with pulmonary hypertension before transplantation. *J Am Coll Cardiol* 25:1656-1664
66. Roberts JD Jr, Lang P, Bigatello LM, Vlahakes GJ, Zapol WM (1993) Inhale, nitric oxide in congenital heart disease *Circulation* 87:447-453
67. Miller OI, Celermajer DS, Deanfield JE, Macrae DJ (1994) Very-low-dose inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator after operations for congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 108:487-494
68. Wessel DL (1993) Inhaled nitric oxide for the treatment of pulmonary hypertension before and after cardiopulmonary bypass. *Crit Care Med* 21:5344S345
69. Wessel DL, Adatia I, Thompson JE, Hickey PR (1994) Delivery and monitoring of inhaled nitric oxide in patient with pulmonary hypertension. *Crit Can Med* 22:930-938
70. Goldman AP, Delius RE, Deanfield JE, Macrae DJ (1995) Nitric oxide is superior to prostacyclin for pulmonary hypertension after cardiac operations. *Ann Thorac Surg* 60:300-305; discussion 306

71. Miller OI, Tang SF, Keech A, Pigott NB, Beller E, Celermajer DS (2000) Inhaled nitric oxide and prevention of pulmonary hypertension after congenital heart surgery: a randomised double blind study. *Lancet* 356:1464-1469
72. Day RW, Hawkins JA, McGough EC, Crezee KL, Orsmond GS (2000) Randomized controlled study of inhaled nitric oxide after operation for congenital heart disease. *Ann Thorac Surg* 69:1907-1912; discussion 1913
73. Goldman AP, Delius RE, Deanfield JE, Miller OI, de Leval MR, Sigston PE, Macrae DJ (1996) Pharmacological control of pulmonary blood flow with inhaled nitric oxide after the fenestrated Fontan operation. *Circulation* 94 (9 Suppl):II-44-II-48
74. Schulze-Neick I, Bultmann M, Werner H, Gamillscheg A, Vogel M, Berger F, Rossaint R, Hetzer R, Lange PE (1997) Right ventricular function in patients treated with inhaled nitric oxide after cardiac surgery for congenital heart disease in newborns and children. *Am. Cardiol* 80:360-363