

P. Brand¹
M. Maas Enriquez²
T. Meyer³
G. Scheuch³
N. Weber⁴

Neue Strategien zur kontrollierten Inhalation von α_1 -Antitrypsin

Difficulties in Controlled Inhalation of α_1 -Protease Inhibitor

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird über eine Reihe von Studien berichtet, die das Ziel hatten, die Effektivität der Inhalation von α_1 -Proteaseinhibitor bei Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel zu optimieren. In einer Pilotstudie wurde gezeigt, dass die hohe inter-individuelle Variabilität der Medikamenten-Deposition in der Lunge auf heterogene Atemmanöver während der Inhalation zurückgeführt werden kann. Kontrolliert man das Atemmanöver, so kann die Variabilität deutlich reduziert werden. Dann wurde untersucht, mit welcher Teilchengröße und welchem Atemmanöver eine maximale periphere Lungendeposition bei Patienten mit Lungenemphysem erreicht werden kann. Dabei zeigte sich, dass für 3–4 μm große Teilchen und eine langsame Inhalationsgeschwindigkeit die periphere Deposition umso größer ist, je größer das inhalierte Volumen ist. Nach der Entwicklung eines Inhalationsgerätes zur Durchführung kontrollierter Inhalationen in der Praxis konnte abschließend gezeigt werden, dass es mit diesem Gerät unter Verwendung eines individuell an die Lungenfunktion des Patienten angepassten Atemmanövers möglich ist, fast 60% des Medikamentes reproduzierbar in der Lungenperipherie des Patienten zu deponieren.

Abstract

In this paper a number of studies will be summarized which were designed to improve the inhalation of α_1 -protease inhibitor in patients with α_1 -protease inhibitor deficiency. A pilot study has shown that the high inter-individual variability of drug deposition in the lungs is due to heterogeneous breathing patterns of the patients. Controlling the breathing pattern led to a significantly decreased variability. Then it was studied which particle size and breathing pattern resulted in highest peripheral lung deposition in patients with emphysema. It was found that for 3–4 μm particles and slow inhalation flow rate the peripheral deposition increases with increasing inhalation volume. After the development of an inhalation device which allows to perform controlled inhalations in clinical practice it was shown that this device, in combination with a breathing pattern individually normalized to the patients lung function, allows to deposit nearly 60% of the drug into the patients lung periphery.

Institutsangaben

¹Klinische Kooperationsgruppe „Aerosolmedizin“ des GSF-Institutes für Inhalationsbiologie, Gauting

²Bayer Vital GmbH, Leverkusen

³Inamed, GmbH, Gauting

⁴Klinische Kooperationsgruppe „Aerosolmedizin“ der Asklepios Fachklinik, Gauting

Anmerkung

Die meisten der in dieser Arbeit erwähnten Studien wurden durch Bayer-Vital, Leverkusen, gefördert.

Korrespondenzadresse

Dr. P. Brand · Robert Koch-Allee 29 · 82131 Gauting

Eingereicht: 11. Oktober 2002 · **Nach Überarbeitung angenommen:** 12. Dezember 2002

Bibliografie

Pneumologie 2003; 57: 153–158 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0934-8387

Einleitung

Personen mit hereditärem α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel leiden an einem gestörten Proteasen-Antiproteasen-Gleichgewicht in der Peripherie der Lunge, das dazu führen kann, dass diese Personen, insbesondere wenn sie rauchen, bereits in jungem Alter ein Lungenemphysem entwickeln [5,17,18]. Zum Verhindern dieser Entwicklung, aber auch zur Verlangsamung der Progression einer bereits vorhandenen Erkrankung, sollte zuallererst das Rauchen eingestellt werden. Zusätzlich kann versucht werden, den fehlenden α_1 -Proteaseinhibitor durch intravenöse Infusionen zu substituieren [6,7,24,25]. Dieser Weg der Applikation hat jedoch den Nachteil, dass nur ein kleiner Teil (ca. 2–3%) des raren und teuren Medikamentes am potenziellen Wirkort, der peripheren Lunge, ankommt [13]. Es ist daher naheliegend, die Inhalation von α_1 -Proteaseinhibitor in Erwägung zu ziehen und zu erproben [4,8,9,10,13,15,23].

Gegenüber anderen Wegen der Aufnahme hat die Inhalation eine Reihe von Vorteilen: Mit ihrer sehr großen inneren Oberfläche und der kurzen Distanz zwischen Luftraum und Blutpool ermöglicht die Lunge eine sehr schnelle und effiziente Aufnahme von Medikamenten. Es gibt bei inhalativer Applikation eines Medikaments keinen First-pass-Effekt durch die Leber, und eine Inhalation ist logistisch potenziell einfacher durchzuführen als eine intravenöse Injektion. Weiterhin hat sich gezeigt, dass die pharmakokinetischen Eigenschaften mancher inhalierten Medikamente äußerst günstig sind: Bei der Inhalation von Heparin wurde beobachtet, dass der Blutspiegel über einen überraschend langen Zeitraum erhöht blieb, so dass von einer Depot-Wirkung gesprochen werden kann [12]. Andererseits aber hat die Inhalation als Applikationsweg für Medikamente auch erhebliche Nachteile. Verschiedene Studien zeigten, dass besonders bei Patienten mit COPD nur ein recht kleiner Teil des inhalierten Medikamentenaerosols in der Lungenperipherie deponiert wird und diese deponierte Menge starker inter- und intraindividuelle Variabilität unterliegt [11,13,19,22]. Diese Nachteile haben in der Vergangenheit die Anwendung der Inhalation zu therapeutischen Zwecken stark eingeschränkt.

Im folgenden Artikel wird über eine Reihe von Studien berichtet, die das Ziel hatten, die Deposition von α_1 -Proteaseinhibitor in der Lunge von Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und COPD systematisch zu untersuchen, um daraus ein Konzept abzuleiten und zu erproben, mit dem die Deposition des Medikamentes bei diesen Patienten optimiert werden kann. Da davon ausgegangen wird, dass die Lungendestruktion bei diesen Patienten auf ein gestörtes Proteasen/Antiproteasen-Gleichgewicht im Bereich der Lungenperipherie zurückzuführen ist, wurde der Schwerpunkt in diesen Studien auf eine optimale periphere Deposition gelegt, d. h. auf eine hohe Deposition im Bereich respiratorischer Bronchiolen und dem Alveolarbereich.

Variabilität der Totaldeposition bei Patienten mit Lungenerkrankungen

In einer Pilotstudie wurde der Status der Inhalationstherapie in der klinischen Praxis untersucht [1]. Dazu wurde bei 18 Patienten mit unterschiedlichen Lungenerkrankungen untersucht, wie

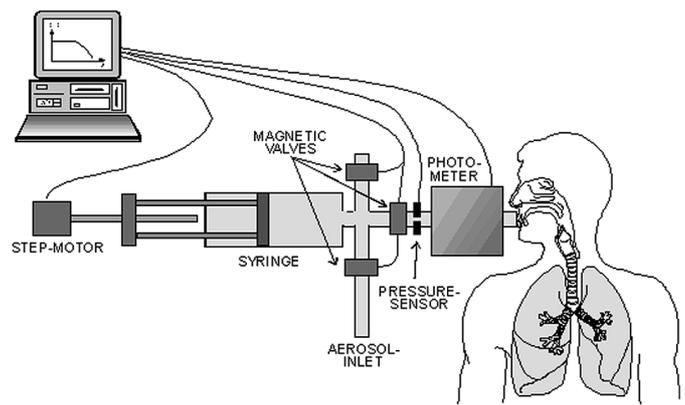


Abb. 1 Schematische Darstellung des Gerätes zur photometrischen Messung der Regionaldeposition bei kontrollierten Inhalationen.

sie die im Rahmen ihres stationären Klinikaufenthaltes notwendigen Inhalationen mit einem Düsenvernebler in der Praxis durchführen. Alle Patienten wurden zu Beginn der Behandlung angewiesen, langsam und tief zu inhalieren. Bei diesen Patienten wurde dann mit einem am Vernebler montierten Flussmesser das Atemmanöver während der Inhalation aufgezeichnet. In einem zweiten Studienteil wurde die Totaldeposition von monodispersen Testaerosolen für die zuvor bestimmten Atemmanöver bei dem jeweiligen Patienten ermittelt. Die Totaldeposition quantifiziert dabei die Fraktion des inhalierten Aerosols, die im gesamten Atemtrakt des Patienten abgeschieden wurde. Die Partikelgröße betrug dabei $3\mu\text{m}$. Dazu wurde ein auf dem Prinzip eines Kolbenpumpen-betriebenen Beatmungsgerätes basierendes Inhalationsgerät entwickelt, mit dem die vom Probanden durchzuführenden Atemmanöver vorgegeben werden können und die Partikelkonzentration am Mund photometrisch gemessen wird (Abb. 1). Wie erwartet zeigte sich eine sehr hohe interindividuelle Variabilität der gemessenen Totaldeposition, die zwischen 20% und fast 95% schwankte (Abb. 2, linke Box). Die Ursache dieser hohen Variabilität lag in den unterschiedlichen Atemmanövern der Patienten. So zeigte sich, dass einige der Patienten statt langsam und tief, langsam und flach inhalierten und damit nur wenig Aerosol in der Lunge deponiert wurde, während andere Patienten tief und schnell inhalierten und damit eine relativ hohe Totaldeposition erzielten.

Im nächsten Studienteil wurde dann untersucht, ob die interindividuelle Variabilität der Deposition durch eine Standardisierung des Atemmanövers reduziert werden kann. Dazu inhalierten alle Patienten ein Aerosolvolumen von einem Liter mit drei verschiedenen Inhalationsflüssen, einem moderaten Fluss von $500\text{cm}^3/\text{s}$, einem langsamen Fluss von $250\text{cm}^3/\text{s}$ und einem sehr langsamen Fluss von $100\text{cm}^3/\text{s}$. Es zeigte sich, dass für alle drei kontrollierten Atemmanöver eine deutlich höhere Totaldeposition mit erheblich reduzierter Variabilität erreicht wurde (Abb. 2). Dabei war die Totaldeposition umso größer und deren Variabilität umso kleiner, je langsamer inhaliert wurde. Der Vergleich mit 14 gesunden Probanden zeigte darüber hinaus, dass Unterschiede in der Deposition zwischen Patienten mit Lungenerkrankungen und gesunden Probanden, nämlich eine erhöhte bronchiale Deposition in Lungenbereichen mit Atemwegsobstruktionen, verschwinden, wenn man den Atemfluss reduziert (Abb. 3). Es zeigte sich darüber hinaus, dass die bei größeren

Optimierung des Atemmanövers zur Inhalation von Prolastin®

Soll ein Medikament mit kontrolliertem Atemmanöver optimal inhaliert werden, so ist es notwendig, zunächst das für die jeweilige Patientengruppe optimale Atemmanöver zu identifizieren. Im Hinblick auf eine effiziente inhalative Substitution von α_1 -Proteaseinhibitor wurde die periphere Deposition von Prolastin® bei 13 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und mittelschwerem bis schwerem Lungenemphysem systematisch untersucht. Mit dem im vorigen Abschnitt erläuterten Inhalationsgerät (Abb. 1) wurde mit der neuen „Einatemzugs-Regionaldepositions-Methode“ [2, 3] für eine Vielzahl verschiedener Inhalationsbedingungen das Depositionsverhalten der Teilchen in der Lunge mit monodispersen Testaerosolen charakterisiert. Die „Einatemzugs-Regionaldepositions-Methode“ ermöglicht dabei zwischen einer zentralen Deposition, d.h. einer Deposition innerhalb des funktionellen Totraumes und einer peripheren Deposition, d.h. einer Deposition peripher zum Totraum, zu unterscheiden. Die Teilchengröße wurde zwischen 1 und 4 μm variiert, der Atemfluss zwischen 80 und 500 cm^3/s und das Inhalationsvolumen zwischen 400 und 2000 cm^3 [20]. Die Studie zeigte, dass die maximale periphere Deposition für Teilchen mit einem Durchmesser von 3 μm erzielt werden kann (Abb. 4). Für kleinere Teilchen nimmt die Deposition insgesamt ab, weil vermehrt Teilchen wieder ausgeatmet werden, für größere Teilchen nimmt die bronchiale Deposition durch Impaktions-Abscheidung zu, so dass weniger Teilchen in die Lungenperipherie vordringen können. Es zeigte sich weiterhin, dass der Inhalationsfluss nur eine untergeordnete Rolle spielt, solange man sich im Bereich langsamer Inhalation mit Flüssen unter 500 cm^3/s bewegt. Für die weiteren Untersuchungen wurde deshalb ein Fluss von 200 cm^3/s ausgewählt, der zum einen langsam genug war um eine lange Atempause nach der Inhalation zu vermeiden, zum anderen von den Patienten gut toleriert wurde. Die Höhe der peripheren Deposition wurde hauptsächlich vom inhalierten Volumen determiniert (Abb. 5). Es zeigte sich, dass für die kleinsten Volumina eine periphere Deposition von nur 10% erzielt wurde, während bei großen Volumen fast 70% der Teilchen in der Lungenperipherie abgeschieden wurden. Durch eine 2 s Atempause am Ende der Inhalation kann die periphere Deposition noch einmal um ca. 5% erhöht werden.

Aus obiger Studie wurde abgeleitet: Die Inhalation von Prolastin sollte mit Teilchen von 3–4 μm und mit einem Inhalationsfluss von 200 cm^3/s durchgeführt werden. Eine 2 s Atempause ist dabei empfehlenswert. Das inhalierte Volumen sollte so groß wie möglich sein. Daher wurde dieses Volumen V aus der aktuellen Spirometrie der Patienten abgeleitet:

$$V = 0,8 \cdot (\text{TLC} - \text{ITGV})$$

Um dieses Ergebnis mit einer Standardmethode zu validieren, inhalierten 10 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem radioaktiv markierte Testaerosole mit einem Durchmesser von 2, 3 und 4 μm . Die Inhalation erfolgte unter den oben angegebenen optimalen Bedingungen und die periphere Deposition wurde aus der Clearance-Kinetik der deponierten Partikel ermittelt [21]. Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass mit dem oben genannten Atemmanöver tatsächlich eine sehr

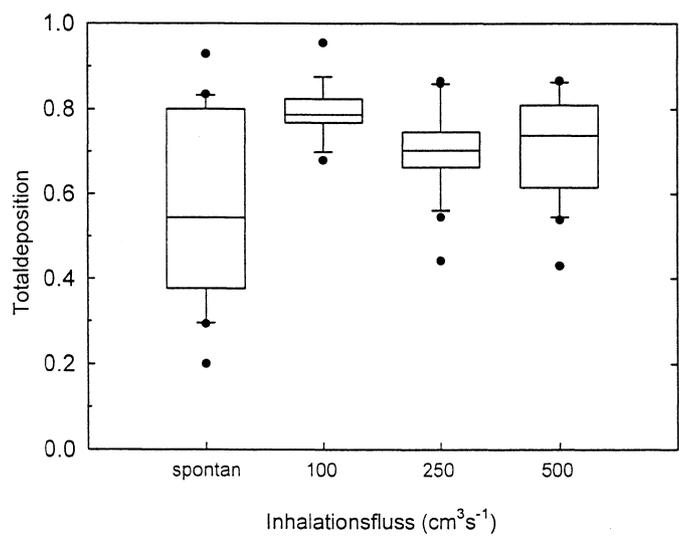


Abb. 2 Totaldeposition gemessen bei 18 Patienten mit verschiedenen Lungenerkrankungen für vier verschiedene Atemmanöver [1]. Das inhalierte Volumen und der Inhalationsfluss des spontanen Atemmanövers wurde während einer Routineinhalation mit einem Düsenvernebler bestimmt. Bei den kontrollierten Inhalationen wurde jeweils 1 Liter Aerosol inhaliert. Die Teilchengröße betrug 3 μm .

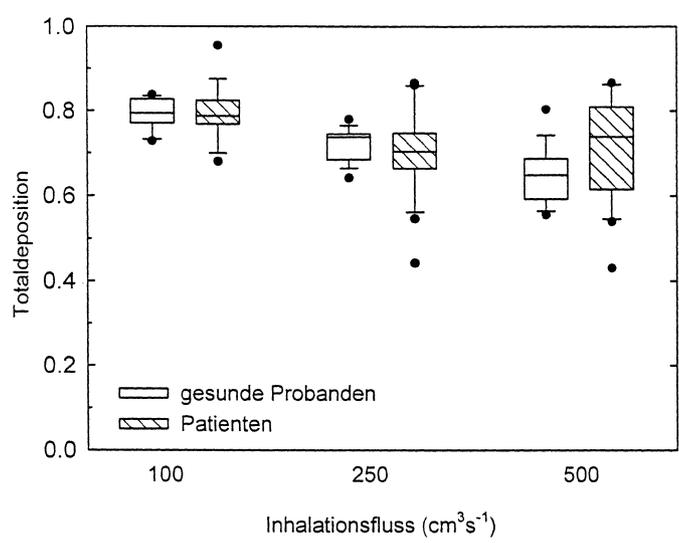


Abb. 3 Totaldeposition bei 18 Patienten mit Lungenerkrankungen und 14 gesunden Probanden [1] für drei verschiedene kontrollierte Atemmanöver. Es wurde jeweils 1 Liter Aerosol inhaliert. Die Teilchengröße betrug 3 μm .

Atemflüssen beobachtete höhere bronchiale Deposition obstruktionsabhängig ist und daher mit abnehmendem FEV_1 zunimmt. Reduziert man den Inhalationsfluss, so verschwindet diese FEV_1 -Abhängigkeit.

Aus diesen Ergebnissen wurde gefolgert, dass eine Kontrolle des Atemmanövers die Effizienz und Reproduzierbarkeit der Inhalationstherapie, beispielsweise bei der Substitution von α_1 -Proteaseinhibitor, erheblich verbessern kann.

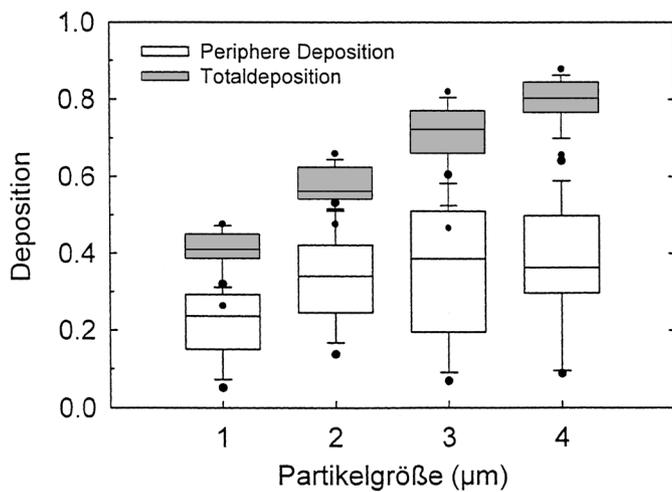


Abb. 4 Totaldeposition und periphere Deposition von monodispersen Test-Aerosolen bei 13 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem als Funktion der Partikelgröße.

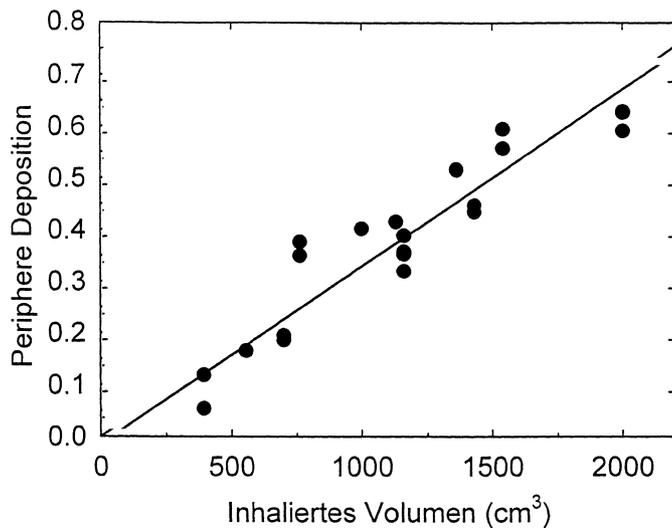


Abb. 5 Periphere Deposition von monodispersen Testaerosolen (3 μm) bei 13 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem als Funktion des inhalierten Volumens.

hohe periphere Deposition erreicht werden kann (Abb. 6). Für 3 μm große Teilchen wurden annähernd 70% der vernebelten Menge peripher deponiert [20].

Entwicklung der AKITA®

Um die Ergebnisse der oben geschilderten experimentellen Forschung in der Praxis nutzbar zu machen und es dem Patienten zu ermöglichen, kontrollierte Inhalationen auch zu Hause mit einfachen Mitteln durchzuführen, wurde ein neues Inhalationsgerät entwickelt (Apparatur zur kontrollierten Inhalation therapeutischer Aerosole – AKITA®, Inamed GmbH, Gemünden), das inzwischen kommerziell erhältlich ist. Bei diesem Gerät handelt es sich um eine Steuerungseinheit, die einen kommerziellen Düsenvernebler kontrolliert mit Druck- und Zusatzluft versorgt (Abb. 7). Das für jeden Patienten optimale Atemmanöver kann

bei diesem Gerät über eine individuelle Smart-Card programmiert werden. Durch diese Speicherkarte werden folgende Parameter vorgegeben: das zu inhalierende Volumen, der Atemfluss, die Länge der Atempause am Ende der Inhalation und die Zahl der Atemzüge. Saugt der Patient leicht am Mundstück des Verneblers, so wird die Inhalation gestartet, d. h. der Vernebler wird für eine bestimmte Zeit mit Druckluft und einer definierten Menge an Zusatzluft versorgt. Anschließend wird der Patient optisch aufgefordert, für eine bestimmte Zeit den Atem anzuhalten. Diese Prozedur wird so lange wiederholt, bis die vorbestimmte Anzahl von Inhalationen durchgeführt wurde. Zwischen den einzelnen Inhalationen kann der Patient spontane Atemzüge machen.

Um das AKITA®-System zu erproben, wurde eine Studie bei 7 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und mittelschwerem bis schwerem Lungenemphysem durchgeführt [16]. Die Patienten inhalierten von einem AKITA®-gesteuerten Pari LC Star®-Düsenvernebler eine mit $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierte [14], 10%ige, transgene, humane α_1 -Proteaseinhibitor Lösung (tg-h-AAT). Die intrathorakalen und peripheren Depositionen wurden mit einer Gamma-Kamera und Gamma-Szintillationszählern quantifiziert. Diese Studie zeigte, dass auch unter praxisnahen Bedingungen hohe intrathorakale und periphere Depositionen mit geringer inter-individueller Variabilität erzielt werden können. Die intrathorakale Deposition lag dabei bei $82 \pm 6\%$ und die periphere bei $57 \pm 7\%$ der vernebelten Menge.

Vergleich verschiedener Inhalationsgeräte

Um die Eignung des AKITA®-Systems für die optimale Inhalation von α_1 -Proteaseinhibitor zu dokumentieren, wurde eine vergleichende Studie mit verschiedenen Inhalationsgeräten durchgeführt [20]. Dabei wurde untersucht, welche Zeit notwendig ist, um mit den einzelnen Geräten 50 mg α_1 -Proteaseinhibitor in der Lungenperipherie der Patienten zu deponieren. An der Studie nahmen 6 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel teil. Folgende Verneblersysteme wurden verwendet: Pari LC Star®-Düsenvernebler, Medic Aid Halolite®-System, AKITA®-System in Kombination mit einem Pari LC Star®-Vernebler und ein AKITA®-System in Kombination mit einem Medic Aid Side-stream®-Düsenvernebler. Während die Inhalationen mit dem LC Star®-Vernebler und dem Halolite®-System spontan erfolgten, wurden die Inhalationen mit dem AKITA®-System mit dem oben genannten optimierten Atemmanöver durchgeführt. Die Patienten inhalierten mit jedem der vier Geräte fünf Minuten lang eine radioaktiv markierte Prolastin®-Lösung. Aus der mittels Gamma-Kamera und Gamma-Szintillationszählern bestimmten, peripher deponierten Prolastin®-Dosis wurde die Zeit hochgerechnet, die zur Deposition von 50 mg Prolastin® nötig gewesen wäre (Abb. 8). Die längste Inhalationszeit von annähernd 100 Minuten wurde für das Halolite®-System ermittelt. Diese lange Inhalationszeit ist darauf zurückzuführen, dass bei diesem Gerät das Aerosol nicht kontinuierlich während der gesamten Inhalationsphase, sondern als kleiner Aerosol-Bolus appliziert wird. Damit wird pro Atemzug nur eine kleine Medikamentenmenge verabreicht. Mit dem Pari LC Star® dauerte die Deposition von 50 mg Prolastin® im Mittel 44 Minuten. Die Inhalationszeiten waren mit den beiden AKITA®-Systemen am kürzesten (im Mittel

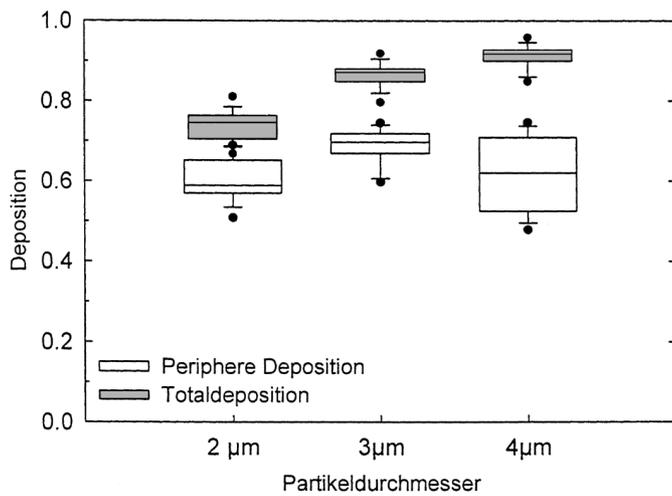


Abb. 6 Totaldeposition und periphere Deposition von radioaktiv markierten Test-Aerosolen bei 10 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem als Funktion der Partikelgröße. Inhaliert wurde mit einer Flussrate von 250 cm³/s.

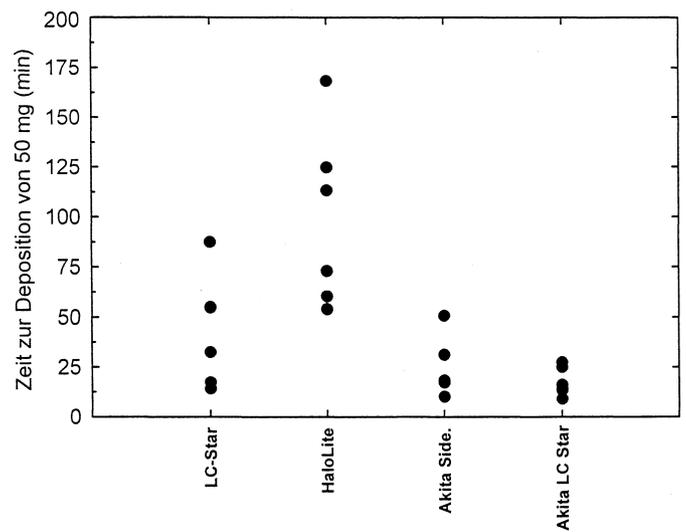


Abb. 8 Zeit notwendig zur Deposition von 50 mg radioaktiv markiertem Prolastin® gemessen für vier verschiedene Inhalationssysteme bei 7 Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem.

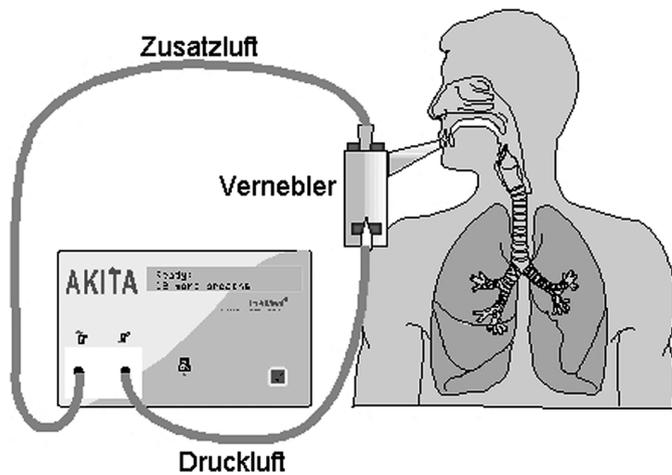


Abb. 7 Schematische Darstellung des AKITA-Inhalationssystems.

24 min bei Verwendung eines Sidestream® und 17 min bei Verwendung des LC Star®). Die kleinste Variabilität der Inhalationszeit wurde bei der Kombination von AKITA® mit dem Pari LC Star® beobachtet (Abb. 8). Dieses Ergebnis zeigt, dass mit kontrollierter Inhalation die zur Substitution von α_1 -Proteaseinhibitor notwendige Medikamentendosis in einer Zeit appliziert wird, die für den Patienten tolerabel ist und damit die Inhalation zu einer attraktiven Alternative zur intravenösen Applikation wird. Inzwischen wurde durch weitere Optimierungen eine Inhalationszeit von unter 10 min erreicht.

Schlussfolgerungen

In einer Reihe von Studien, vorwiegend an Patienten mit α_1 -Proteaseinhibitor-Mangel und Lungenemphysem, konnte gezeigt werden, dass die periphere Deposition von inhalierten Medikamenten deutlich erhöht und ihre Variabilität erniedrigt werden kann, wenn die Inhalation unter kontrollierten und optimierten

Bedingungen erfolgt. Durch eine gezielte Vermeidung von Impaktionsabscheidung in extrathorakalen Atemwegen kann eine orale Aufnahme des Medikamentes verringert werden. Es steht zu erwarten, dass damit manche Nebenwirkungen, wie zum Beispiel der Soor-Befall des Mundes bei Steroid-Inhalationen, vermieden werden können. Verwendet man optimierte und kontrollierte Inhalationen, kann das Atemmanöver so ausgewählt werden, dass die Deposition des Medikamentes vorwiegend in zuvor definierten Lungenbereichen stattfindet. In den vorliegenden Studien wurde die Lungenperipherie als Target-Region festgelegt. Es lassen sich jedoch auch Atemmanöver und Partikelgrößen identifizieren, die zu einer hohen bronchialen oder gar extrathorakalen Deposition führen und so für andere therapeutische Konzepte eingesetzt werden können. Dem Kliniker eröffnet diese neue Strategie die Möglichkeit, auch Medikamente, seien es topische oder systemische, zu verabreichen, deren Dosierung aufgrund hoher Nebenwirkungen kritisch ist. Für den Patienten, beispielsweise den Patienten mit Mukoviszidose, der jeden Tag erhebliche Zeit für Inhalationen aufwenden muss, bedeutet eine kontrollierte Inhalation eine deutlich kürzere Inhalationszeit. Visionen über die Inhalation von Insulinen bei Diabetikern, Heparin vor Operationen oder Flugreisen, die Inhalation von Gerinnungsfaktoren, Wachstumsfaktoren und Hormonen sind damit der Realisierung ein Stück näher gekommen.

Literatur

- Brand P, Friemel I, Meyer T et al. Total deposition of therapeutic particles during spontaneous and controlled inhalations. *J Pharmaceut Sci* 2000; 89: 724–731
- Brand P, Häußinger K, Meyer Th et al. Intrapulmonary distribution of deposited particles. *J Aerosol Med* 1999; 12: 275–284
- Brand P, Meyer T, Sommerer K et al. Alveolar deposition of monodisperse aerosol particles in the lung of patients with COPD. *Exp Lung Res* 2002; 28: 39–54
- Cantin AM, Woods DE. Aerosolized prolactin suppresses bacterial proliferation in a model of chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1130–1135

- ⁵ Crystal RG, Brantly ML, Hubbard RC et al. The α_1 -antitrypsin Gene and its mutations. *Chest* 1989; 95: 196–208
- ⁶ Hubbard RC, Crystal RG. Augmentation therapy of α_1 -antitrypsin deficiency. *Eur Respir J* 1990; 9: 44s–52s
- ⁷ Hubbard RC, Crystal RG. α_1 -antitrypsin augmentation therapy for α_1 -antitrypsin deficiency. *Am J Med* 1988; 24: 52–62
- ⁸ Hubbard RC, Crystal RG. Strategies for aerosol therapy of α_1 -antitrypsin deficiency by the aerosol route. *Lung Suppl* 1990; Suppl: 565–578
- ⁹ Hubbard RC, McElvaney NG, Sellers SE et al. Recombinant DNA-produced α_1 -antitrypsin administered by aerosol augments lower respiratory tract antineutrophil elastase defenses in individuals with α_1 -antitrypsin deficiency. *J Clin Invest* 1989; 84: 1349–1354
- ¹⁰ Hubbard RC, Brantly ML, Sellers SE et al. Anti-neutrophil-elastase defenses of the lower respiratory tract in α_1 -antitrypsin deficiency directly augmented with an aerosol of α_1 -antitrypsin. *Ann Intern Med* 1989; 111: 206–212
- ¹¹ Itoh H, Ishii Y, Maeda H et al. Clinical observations of aerosol deposition in patients with airway obstruction. *Chest* 1981; 80: 837–840
- ¹² Köhler D. Aerosolized Heparin. *J Aerosol Med* 1994; 7: 307–314
- ¹³ Kropp J, Wencker M, Hotze A et al. Inhalation of [¹²³I] α_1 -protease inhibitor: toward a new therapeutic concept of α_1 -protease inhibitor deficiency? *J Nucl Med* 2001; 42: 744–751
- ¹⁴ Lafont P, Bellon G, Mein Tapponnier N et al. α_1 -antitrypsin labeling with technetium 99^m for monitoring the deposition of α_1 -antitrypsin in aerosol therapy. *Nuclear Medicine & Biology* 1998; 25: 509–513
- ¹⁵ McElvaney NG, Hubbard RC, Birrer P et al. Aerosol α_1 -antitrypsin treatment for cystic fibrosis. *Lancet* 1991; 337: 392–394
- ¹⁶ Müllinger B, Meyer T, Sommerer K et al. Patient individualized inhalation optimizes peripheral lung deposition. *Drug delivery to the lungs XII* 2001: 23–26
- ¹⁷ Perlmutter DH, Pierce JA. The α_1 -antitrypsin gene and emphysema. *J Appl Physiol* 1989; 257: L 147
- ¹⁸ Pierce JA. Antitrypsin and emphysema. *JAMA* 1988; 259: 2890–2895
- ¹⁹ Schulz H, Brand P, Heyder J. Particle deposition in the respiratory tract. In: Gehr P, Heyder J (Hrsg): *Particle-lung interactions*. New York, Basel: Dekker, 2000: 229–290
- ²⁰ Sommerer K, Meyer T, Brand P et al. Evaluation of an optimal device for peripheral deposition in patients with lung emphysema. *Drug delivery to the lungs XII* 2001: 171–174
- ²¹ Stahlhofen W, Gebhart J, Heyder J. Experimental determination of regional deposition of aerosol particles in the human respiratory system. *Am Ind Hyg Assoc J* 1980; 41: 385–399
- ²² Sweeney TD, Brain JD, Leavitt SA et al. Emphysema alters the deposition pattern of inhaled particles in hamsters. *Am J Pathol* 1987; 128: 19–28
- ²³ Vogelmeier C, Kirlath I, Warrington S et al. The intrapulmonary half-life and safety of aerosolized α_1 -protease inhibitor in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 536–541
- ²⁴ Wencker M, Banik N, Buhl R et al. Langzeittherapie des α_1 -Antitrypsin-mangelassoziierten Lungenemphysems mit humanen α_1 -Antitrypsin. *Pneumologie* 1998; 52: 545–552
- ²⁵ Wewers MD, Casolaro MA, Sellers SE et al. Replacement therapy for α_1 -antitrypsin deficiency associated with emphysema. *New Engl J Med* 1987; 316: 1055–1062