

Ultrasonic nebulizers and the enzymatic effect of rhDNase (Pulmozyme®), Extract (1)

Concluding report on in vitro investigations

Aim of investigations

Patients suffering from cystic fibrosis (CF) show an increase in the viscosity of the mucus produced in the lung due to a greatly elevated proportion of free DNA. This increase in viscosity leads to a deterioration in pulmonary function which can, however, be combated by various types of treatment.

Inhalation of rhDNase (Pulmozyme®) leads to a marked decrease in mucus viscosity and thus improved pulmonary clearance.

The aim of the investigations was to analyze enzymatic rhDNase activity before and after nebulization with the Multisonic® ultrasonic nebulizer manufactured by Schill, and to compare it to a compressed-air nebulizer (Pari-Master).

Materials and methods

During in vitro investigations, rhDNase (Pulmozyme®, manufactured by Roche) was nebulized using the Multisonic® ultrasonic nebulizer manufactured by Schill. Gel electrophoresis was used to determine enzyme activity before and 2.5 sec, 1 min, 5 min, 15 min, 30 min and 60 min after nebulization on high-molecular human DNA. The enzyme activity of non-nebulized enzyme and activity after nebulization with a compressed-air nebulizer (Pari-Master) before and 2.5 sec, 1 min, 5 min, 15 min, 30 min and 60 min after nebulization were also measured for comparison.

Discussion

In vitro investigations of the nebulizer types required for inhalational therapy with Pulmozyme® (Multisonic ultrasonic nebulizer and Pari-Master compressed-air nebulizer) have shown that there are no significant differences between the two of them as regards enzyme activity. Although different nebulization techniques are used, the effect on Pulmozyme® activity is the same for both systems and thus they both show a slight reduction in activity as compared to non-nebulized Pulmozyme®. In addition, the duration of nebulization does not appear to have an effect on enzyme efficacy for the two nebulizer types.

The extremely rapid fragmentation of long-chain DNA and thorough breaking up into pieces after 60 minutes is striking in the case of the non-nebulized enzyme. In these areas, Pulmozyme® efficacy of both nebulizer types is slightly weaker than that of the non-nebulized enzyme. Heat developing during operation of the ultrasonic nebulizer could be responsible for this, as could a sonification effect caused by ultrasound.

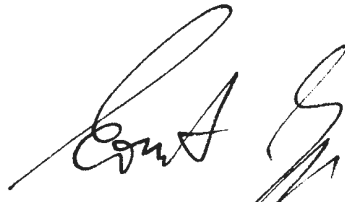
On the other hand, shearing forces occurring in the Pari-Master compressed-air nebulizer could slightly affect enzyme activity. A change in reactivity could also occur due to the nebulization process and the close contact of the enzyme with air or O₂ which occurs in both devices.

Despite this, the efficacy of Pulmozyme® is only slightly reduced by the use of the two nebulizers tested. Other factors such as the uniform distribution of the aerosol in the lung could be more significant in this context and should be considered in future investigations.


Summary

In the in vitro investigations conducted on the enzymatic efficacy of Pulmozyme® after short and long nebulization periods with the Multisonic ultrasonic nebulizer, no significant difference could be found as compared to nebulization with the Pari-Master compressed-air nebulizer. A slight reduction in efficacy of the nebulized enzyme as compared to the non-nebulized enzyme may be observed but only, however, for certain DNA lengths.


Freiburg/Germany, 13 October 2000



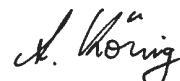
Dr. E. M. App
Leiter der CF-Ambulanz



Dr. K. Duffner
Biologe



D. Myrtek
Biologe



A. König
MTA

Ultrahangos porlasztó és az emberi DNS (Pulmozyme®) enzimikus hatása, Kivonat (1)

Zárójelentése az in-vitro vizsgálatoknak

A vizsgálatok célja

Mukoviszcidózis (cisztás fibrózis, CF) pácienseknél a tüdőben a szabad DNS egy erős megemelkedett része révén a tüdőben termelt nyák/nyálka szívósságának megemelkedése következik be. A viszkozitás ezen fokozódása vezet a tüdőfunkció egy rosszabbodásához, amely viszont különböző terápiákon át ellensúlyozható.

Az emberi DNS-nek (Pulmozyme®) az inhalatív módon történő beadásával a mukusz viszkozitás jelentős csökkenése következik be és ezzel egy javult tüdő tisztaság.

A vizsgálat célja az volt, hogy az enzimikus emberi DNS aktivitást a Schill cég "Multisonic®" ultrahangos porlasztójával történt porlasztás előtt és után, összehasonlítva a sűrített levegős porlasztóval ("PARI-Master"), elemezzék.

Anyag és módszerek

Az in vitro-vizsgálatokhoz az emberi DNS-t (Pulmozyme®, Fa. Roche) a Schill cég "Multisonic®" ultrahangos inhalációs készülékével porlasztották. Az enzimaktivitást mindig előtte és 2.5 mp-cel, 1 perccel, 5 perccel, 15 perccel, 30 perccel és 60 perccel a porlasztás után a magasan molekuláris DNS-en egy gél elektroforézissel határozták meg. Összehasonlító méréseként szolgáltak a nem porlasztott enzim enzim aktivitásai és az aktivitások egy sűrített levegős porlasztóval ("PARI-Master") történt porlasztás után, mindig előtte is és 2.5 mp-cel, 1 perccel, 5 perccel, 15 perccel, 30 perccel és 60 perccel a porlasztás után.

Vita

Az in vitro-vizsgálatok a Pulmozyme®-hoz szükséges porlasztótípusok (Ultrahangos-Inhalációs készülék "Multisonic" és sűrített levegős porlasztó "PARI-Master") inhalációs terápiájához megmutatták, hogy a

kettő között semmilyen jelentős különbség sincs az enzimaktivásban. Bár különböző porlasztási technikákkal dolgoztak, a hatás a Pulmozyme aktivitásra mindkettő rendszernél egyforma és ezáltal a csekély aktivitás redukálódás is a nem porlasztott Pulmozyme^{®-mal} összehasonlítva. A porlasztás tartama is úgy tűnik, hogy mindkettő porlasztótípusnál nincs befolyással az enzimaktivásra.

Feltűnő a nem porlasztó enzimmél a hosszan láncos DNS rendkívül gyors széttöredezése és az alapos szétDarabolódása 60 perc után. A Pulmozyme hatékonysága mindkettő rendszernek a nem porlasztó enzimmel összehasonlítva ezeken a területeken egy kicsit gyengébb. Lehet, hogy az ultrahangos porlasztónál egy befolyásolás hőképződés révén az üzemeltetés során a felelős. Megfontolandó egy szonifikációs hatás is ultrahang által.

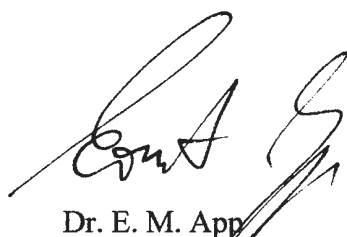
Másrészt a fellépő gravitációs erők a Pari-Master sűrített levegős porlasztónál az enzim aktivitás egy könnyebb befolyásolását okozhatná. Szintúgy felléphetne a reaktivitás változása porlasztási folyamat révén és az enzim ezáltal keletkező, levegővel, valamint O₂-vel történő intenzív kapcsolata révén mindkettő készüléknél.

Ennek ellenére a Pulmozyme[®] hatékonysága mindkettő tesztelt porlasztó készülék alkalmazása révén csak nagyon csekély mértékben csökkent. Más tényezők, mint az aeroszol azonos mértékű eloszlása a tüdőben, ebben az összefüggésben jelentősebb szerepet játszhatnak és a jövőbeni vizsgálatoknál figyelembe kellene venni.

Összefoglalás

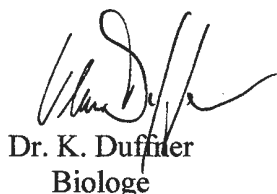
A végrehajtott in vitro vizsgálatokban a Pulmozyme[®] enzimaktivitásához kapcsolódóan a "Multisonic" ultrahangos porlasztóval történt rövidebb és hosszabb porlasztás után nem állapítottak meg semmilyen különbséget a „PARI-Master” sűrített levegős porlasztó porlasztásához képest. A nem porlasztottat a porlasztó enzimmel összehasonlítva van egy csekély hatáscsökkenés, amely azonban csak meghatározott DNS-hosszúsági tartományokban látható. I.

Freiburg, den 10.2000.10.13



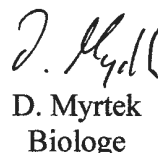
Dr. E. M. App
Leiter der CF-Ambulanz

A CF ambulancia vezetője



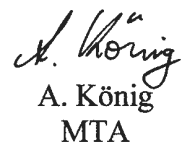
Dr. K. Duffner
Biologe

Biológus



D. Myrtek
Biologe

Biológus



A. König
MTA

Orvosi-technikai
asszistens

Az itt szereplő anyagot egy németországi Orvostechikai kiállításon kapott anyagból emelte ki a Sanasol Kft.