

(19)



(10) **LT 4182 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

-
- (11) Patent numeris: **4182** (51) Int. Cl.⁶: **A61K 38/00**
- (21) Paraiškos numeris: **96-133**
- (22) Paraiškos padavimo data: **1996 09 04**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1997 01 27**
- (45) Patent paskelbimo data: **1997 06 25**
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US95/01479**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1995 02 02**
- (85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1996 09 04**
- (31, 32, 33) Prioritetas: **191631, 1994 02 04, US**
- (72) Išradėjas:
Gary Hodgen, US
Robert Williams, US
Daniel Grow, US
- (73) Patent savininkas:
The Medical College of Hampton Roads,
358 Mowbray Arch, Norfolk, VA 23507, US
- (74) Patentinis patikėtinis:
Reda Žabolienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT
-

- (54) Pavadinimas:
Priemonė, skirta būsenų, susijusių su kiaušidžių estrogenais, gydymui
- (57) Referatas:

Priemonė, skirta būsenų, priklausančių nuo kiaušidžių estrogenų, tokių kaip endometriozė, gimdos leiomioma, priešmenstruacinis sindromas arba disfunkcinis gimdos kraujavimas, gydymui, kurią sudaro gonadotropinę išlaisvinančio hormono analogo ir antiprogestino kombinacija; priemonė leidžia ilgalaikį gydymą, nesumažėjant kaulų tankiui, kas stebima, kai naudojami gonadotropinę išlaisvinančio hormono analogai atskirai.

Endometrioze yra endometrinio tipo liaukų ir stromos ektopinis buvimas ne gimdoje. Toks ektopinis endometrinio audinio atsiradimas dažniausiai suformuoja cistas, kuriose yra pakitęs kraujas. Milijonams moterų visame pasaulyje ši būseną pasireiškia silpnumą sukeliančiu skausmu, ir šis skausmas ypatingai atsiranda kartu su endometrinio audinio mėnesine proliferacija. Endometrioze dažniausiai yra visą gyvenimą trunkanti būseną.

Endometriozę galima gydyti įvairiais terapiniais būdais, bet nei vienas iš jų nėra pakankamai efektyvus gydant ilgą laiką (6 mėnesius ir daugiau). Galbūt seniausia terapija, kuri duoda aiškų efektą, yra progestino skyrimas injekcijomis, peroraliniu būdu arba kombinacijoje su peroralinėmis kontraceptinėmis priemonėmis. Tačiau ilgas progestinų, ypač androgeninių, vartojimas sukelia daug nepageidautinų pašalinių efektų, ir JAV tokiame vartojime nepritariama.

Buvo parodyta, kad sintetinis steroidas (etisterono darinys), būtent 17- α -pregna-2,4-dien-20-ino[2,3-d]-izoksazol-17-olis, žinomas taip pat kaip danzolis (prekybinis pavadinimas - danokrinas), yra efektyvus vaistas, gydant endometriozę, duodančią hipoestrogeninę terpę. Deja, šis vaistas taip pat duoda daug androgeninių pašalinių efektų. Šalia vazomotorinio estrogeno sumažėjimo skatinimo, jis sukelia svorio augimą, ilgųjų raumenų spazmas, krūtų atrofiją, karščio priepuolius, nuotaikos svyravimus, odos riebaluotumą, depresiją, edemą, aknę, nuovargį, plaukuotumą, lytinio potraukio svyravimus, galvos skausmą, išbėrimus ir balso pažemėjimą.

Vienas iš efektyviausių endometriožės gydymo būdų yra gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonisto, kuris mažina hipofizio gonadotropino sekreciją ir todėl indukuoja grįžtamos pseudomenopauzės būseną, skyrimas. Nors individualus atsakas yra kintamas, paprastai endometrioze greitai regresuoja trijų mėnesių laikotarpyje, skaičiuojant nuo gydymo pradžios. Nutraukus gydymą, dažniausiai vėl prasideda skausmai ir praėjus keliems mėnesiams po menstruacinio ciklo

sunormalėjimo, vėl prasideda endometriozė. Šį vaistą taip pat galima vartoti gimdos fibroidinių auglių (lejomiomos) gydymui. Pagrindinis šios terapijos trūkumas yra eilė šalutinių efektų, atsirandančių dėl uždelsto didelio hipoeestrogenizmo arba pseudomenopauzės būsenos, kurią sukelia didelis estrogeno netekimas, būtent karščio priepuoliai, kaulų audinio nykimas ir estrogeno veikiamos kardiovaskuliarinės apsaugos praradimas. Iš tikrųjų, hormonų pakeitimo terapijos tikslas yra aprūpinti estrogenu ir/arba progestinu, ir tokiu būdu apsaugoti nuo kaulų audinio nykimo. Nors individualus atsakas ir yra nevienodas, paprastai kaulų audinio nykimas pasidaro pastebimas maždaug po 3 mėnesių gydymo, o labiausiai imliems pacientams maždaug po 6 mėnesių gydymo jis pasidaro labai stipriai išreikštas. Bendras šio pašalinio efekto nepriimtinas rizikos-naudos požiūriu aiškėja iš to fakto, kad mirtingumo rodiklis yra maždaug praėjus 3,2 metų po to, kai postmenopauzinė moteris patiria šlaunies kaulo lūžį dėl osteoporozės. Dėl šio pašalinio efekto JAV Maisto ir Vaistų Administracija (FDA) draudžia vėl skirti gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogą, jei jis jau buvo naudotas iš viso 6 mėnesius. Kitaip sakant, pagal FDA pažymėjimų reikalavimus, šis vaistas, praėjus vaisto nevartojimo periodui, negali būti vėl skiriamas.

Ir lejomioma, ir endometriozė yra susijusios su kiaušidžių estrogenu. Buvo pažymėta, kad vaistas, kuris yra efektyvus gydant endometriozę ir gimdos lejomiomą, yra antiprogestinas (kartais vadinami "progesterono antagonistais" arba "anti-gestagenais"). Žr., pavyzdžiui, Chwalisz et al., *Endocrinology*, 129(1):312, 1991; Kettel et al., *Fertil Steril*, 56(3):402, 1991; Murphy et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76(2):513, 1993. Žr. taip pat Gravanis et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60:156, 1986 ir Wolf et al., *Fertil Steril*, 52:1055, 1989.

Priešmenstruacinis sindromas (PMS) ir disfunkcinis gimdos kraujavimas (DUB) taip pat yra būsenos, kurioms būdingas bendras ciklinis hormonų poreikis, atsirandantis dėl estrogeno gaminimosi kiaušidėse.

Buvo tirtas gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonisto (leuprolido) ir progestino (metoksiprogesterono acetato) kombinacijos panaudojimas gimdos lejomiomos gydymui. Naudojant gydymą kombinacija, buvo pastebėta, kad progestinas panaikina agonisto indukuotą hipoeestrogenizmą, mažindamas nemiominį tūrį, t.y. toks gydymas apsaugo agonisto naudingus efektus. Naudojant didinimo-mažinimo režimą,

progestinas mažina karščio priepuolius ir kalcio praradimą su šlapimu, ir šiek tiek padidėja bendras gimdos tūris, nors ir nepasiekia bazinės linijos tūrių. Žr. Case et al, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76:1217, 1993.

Dabar buvo atrasta, kad gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo ir antiprogestino kombinacija veikia taip, kad yra palengvinamos priklausančios nuo kiaušidžių estrogeno būsenos, tokios kaip endometriozė, gimdos leiomioma, PMS ir DUB, o taip pat dar ir pašalinami kaulų audinio praradimo efektai, kuriuos sukelia estrogeno kiekio sumažėjimas, sukeltas gonadotropiną išlaisvinančio hormono (GnRH) analogo vartojimo. Iš to seka išradimo tikslas - sukurti priemonę gydyti būsenoms, priklausančioms nuo kiaušidžių estrogeno. Šis ir kiti išradimo tikslai taps aiškūs šios srities specialistams iš toliau duodamo smulkaus išradimo aprašymo.

Trumpas figūrų aprašymas

Fig. 1 yra vidutinio estradiolio kiekio per dieną serume grafikas.

Fig.2 yra peritonealinės endometriozės, atsirandančios taikant įvairius gydymo režimus, grafikas.

Fig.3 yra kaulų mineralinių medžiagų tankio, priklausomai nuo įvairių gydymo režimų, grafikas.

Šis išradimas daugiausia susijęs su būsenų, priklausančių nuo kiaušidžių estrogeno, tokių kaip endometriozė, miominiai augliai (pvz., gimdos leiomioma), priešmenstruacinis sindromas (PMS) ir/arba disfunkcinis gimdos kraujavimas (DUB), gydymu. Tiksliau, šis išradimas yra susijęs su tokių būsenų gydymui skirta priemone, kurioje yra gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo tam tikras kiekis, kuris yra pakankamas, kad cirkuliuojančio serume estrogeno kiekis būtų sumažintas iki apytikriai 20 pg/ml arba mažiau, naudojant jį tam tikrą laiko tarpą (mažiausiai 30 dienų); be to, į šią priemonę taip pat įeina toks antiprogestino kiekis, kurio pakanka gimdos gleivinės antiproliferacijai ir kaulų audinio išlaikymui.

Pagal šį išradimą, moterys, sergančios ligomis, susijusiomis su kiaušidžių estrogenu, tokiomis kaip endometriozė, gimdos leiomioma, PMS ir/arba DUB, gydomos ir su gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogu ir su antiprogestinu. Netikėtai buvo rasta, kad pagerėjo ne tik endometriozės, PMS, DUB arba miominių

auglių sukelti simptomai, bet taip pat neutralizuojamas ir kaulų audinio tankio sumažėjimas, susijęs su estrogeno trūkumu, o kai kuriais atvejais šis sumažėjimas ir visai panaikinamas. Iš to seka, kad galima padidinti toleranciją gydymui ir gydymo trukmę, bei galima skirti antiprogestiną ir ilgiau nei 6 mėnesius. Nors bazinis cirkuliuojančio estrogeno kiekis yra didesnis antiprogestino vartojimo metu, negu naudojant terapiją prieš GnRH, nepastebėta aiškesnio ligos stovio atsiradimo, ir tuo pačiu metu kaulų audinio tankis išsilaiko arba netgi padidėja. Kadangi teorija to neriboja, manoma, kad yra atskiri estrogeno efekto slenksčiai, tokie, kad po pradinio estrogeno sumažinimo yra didesnės koncentracijos langas, kuriame sumažintas cirkuliuojančio estrogeno kiekis duoda terapinę naudą, ir pagerinama liguista būseną, bet ta pati koncentracija nesukelia greito kaulo audinio nykimo, o kaulo masė išlaikoma arba net padidinama.

Gonadotropiną išlaisvinantis hormonas yra mažas polipeptidas, kurį gamina hipofizis, ir jis kartais vadinamas gonadotropiniu išlaisvinančiu hormonu, lutenizuojantį hormoną išlaisvinančiu hormonu, GnRH arba LHRH. Bet koks šio polipeptido analogas, tiek antagonistas, tiek ir agonistas, gali būti naudojamas šiame išradime.

Gonadotropiną išlaisvinančio hormono antagonistų pavyzdžius galima rasti, tarp kitko, JAV patentuose 4409208, 4547370, 4565804, 4569927 ir 4619914, 5198533 bei WO 89/01944, kurių aprašymai pridedami kaip literatūros šaltiniai. Tokių antagonistų pavyzdžiu yra antidas (dekapeptidas, kurio formulė $D\text{-Ac-D-2-Nal}^1\text{-DpClPhe}^2\text{-D-3-Pal}^3\text{-Ser}^4\text{-NiLys}^5\text{-D-NicLys}^6\text{-Leu}^7\text{-ILys}^8\text{-Pro}^9\text{-D-Ala}^{10}$), $[\text{AcD4ClDPhe}^1, \text{D4ClDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DArg}^6, \text{DAla}^{10}]\text{GnRH}$, $[\text{Ac-4ClDPhe}^2, \text{D}_3\text{Pal}^3, \text{Arg}^5, \text{D}_2\text{Nal}^6, \text{DAla}^{10}]\text{GnRH}$, $[\text{Ac-D}_2\text{Nal}^1, 4\text{FDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DArg}^6]\text{GnRH}$, $[\text{Ac-D}_2\text{Nal}^1, 4\text{ClDPhe}^2, \text{DTrp}^3, \text{DhArg}(\text{Et}_2)^6, \text{DAla}^{10}]\text{GnRH}$ ir $[\text{Ac-Nal}^1, \text{DME4ClPhe}^2, \text{DPal}^3, \text{Ser}^4, \text{Tyr}^5, \text{DArg}^6, \text{Leu}^7, \text{ILys}^8, \text{Pro}^9, \text{DAla}^{10}]\text{GnRH}$.

Gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonistų pavyzdžiais yra leuprolidas, nafarelinas, buzerelinas, $[\text{DAla}^6, \text{de-Gly-NH}_2^{10}]\text{GnRH}$, $[\text{DLys}^6]\text{GnRH}$, $[\text{DAla}^6]\text{GnRH}$, $[\text{2-Me-Ala}^6]\text{GnRH}$, $[\text{D-}\alpha\text{-aminobutiroil}^6, \text{de-GlyNH}_2^{10}]\text{GnRH}$, triporelinas, lutrelinas, gozerelinas, histrelinas ir pan.

Šiame išradime naudojami gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogai gali būti vartojami farmaciškai tinkamų netoksiškų druskų arba kompleksų formoje. Druskomis gali būti adityvinės rūgščių druskos, tokios kaip, pavyzdžiui, hidrochloridas, hidrobromidas, sulfatas, fosfatas, nitratas, oksalatas, fumaratas, gliukonatas, tanatas, maleatas, acetatas, benzoatas, sukcinatas, alginatas, malatas, askorbatas, tatratas ir pan. Komplekai gali būti su metalais, tokiais kaip, pavyzdžiui, cinkas, baris, kalcis, magnis, aliuminis ir panašūs.

Gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo panaudojimas šiame išradime yra panašus į ankstesnį tokių analogų panaudojimą endometriozės ir/arba gimdos leiomiomos gydymui. Taigi, gali būti naudojamas ne tik bet koks žinomas GnRH analogas, bet šio išradimo praktikoje gali būti pritaikytos taip pat ir anksčiau naudotos dozės bei vartojimo būdas. Vadinas, vartojimo būdas gali būti bet koks įprastas vartojimo būdas, kuriame analogas yra aktyvus, pavyzdžiui, peroralinis, intraveninis, subkutaninis, intramuskulinis, sublingvalinis, perkutaninis, rektalinis, intranazalinis arba intravaginalinis. Panašiai, vartojamo vaisto forma gali būti tabletė, dražė, kapsulė, piliulė, purškalas į nosį, aerozolis, plokštelė, implantatas (arba kitoks "sandėlys") ir pan.

Gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo skiriamas kiekis yra toks kiekis, kurio pakanka sumažinti cirkuliuojančio estrogeno kiekiui iki apie 20 pg/ml arba mažiau, praėjus nuo gydymo pradžios 1-6 mėnesiams, ir yra panašus į kiekį, naudojamą iki šiol medicininėje praktikoje. Dažniausiai šis kiekis gali būti maždaug 0,05-50 mg ribose, geriausia nuo 0,5 iki 10,0 mg per dieną. Efektyvios dozės nustatymas yra įprastas dalykas farmacijoje, priimant dėmesį įvairius fizikinius parametrus, tokius kaip svorį, amžių ir pan., ir jį geriausiai atlieka gydantysis klinicistas. Vaisto vartojimas gali būti periodinis, pavyzdžiui, kas mėnesį, arba nepertraukiamas, pavyzdžiui, kasdien. Kasdieninis vartojimas yra tinkamesnis, nes labiau tikėtina, kad pacientai vykdys gydymo režimą ir nepamirš vartoti vaisto, kas atsitinka, kai yra periodinio vartojimo grafikas. Gali būti patogus ir vaisto "šaltinio" vartojimo būdas, toks kaip leuprolido acetato, kuris parduodamas su prekės ženklu Lupron Depot, vartojimas.

Antiprogestinas, kurį reikia kombinuoti su GnRH agonistu arba GnRH antagonistu, gali būti progesterono receptoriaus antagonistas arba farmaciškai

tinkamas agentas, kuris neutralizuoja normalų progesterono biologinį aktyvumą. Tinkamiausias antiprogestinas yra progesterono receptoriaus antagonistas (tiek steroidinis, tiek ir nesteroidinis), kuris pasižymi tam tikru sugebėjimu sumažinti estrogeno sekreciją, bet, kas dar svarbiau, blokuoja tropinių audinių, tokių kaip endometrioze (ektopinė arba gimdoje), arba lejomimos audinio stimuliavimą. Pavyzdžiui, šio išradimo praktikoje ypatingai tinkamas yra RU 486.

Antiprogestinų, kurie gali būti panaudoti šiame išradime, pavyzdžiais yra RU 486 ("mifepristonas", Roussel Uclaf, Paris; JAV patentas 4386085) ir "onapristonas" (Schering Ag, Berlin; JAV patentas 4780461) ir steroidai, aprašyti šiuose patentuose ir paraiškose patentams: JAV patentas 4609651, ypatingai junginys lilopristonas (11β -(4-dimetilaminofenil)- 17β -hidroksi- 17α -(3-hidroksi-prop-1-(Z)-enil-4,9(10)-estradien-3-onas); JAV paraiška ser. Nr. 06/827050, ypatingai junginiai 11β -(4-acetilfenil)- 17β -hidroksi- 17α -(1-propinil)-4,9-estradien-3-onas ir 11β -(4-acetilfenil)- 17β -hidroksi- 17α -(3-hidroksi-1(2)-propenil)-4,9-estradien-3-onas; JAV paraiška ser. Nr. 07/283632; publikuota Europos patento paraiška EP-A 04042831; publikuota PCT paraiška WO 91/14704; ir kiti antiprogestinai, pvz., JAV patentas 4891368.

Antiprogestinas gali būti vartojamas bet koku žinomu būdu, priimtu farmacijos praktikoje. Pavyzdžiui, tinkamo antiprogestino vaistinė forma gali būti tokia, kad ji būtų galima vartoti peroraliniu, subkutaniniu, intramuskuliniu, bukaliniu būdu, per odą, naudojant užklijuotus pleistrus, skirtus transderminei absorbcijai; antiprogestinas gali būti laikomas inertinėje matricoje, kuri implantuojama kūne, arba "sandėlyje", arba vartojamas intravagininiu būdu matricoje, kuri lėtai išskiria antiprogestiną (apie tokį implantatą rašoma JAV patentuose Nr. 4957119 ir 5088505 ir pan.).

Farmacinės kompozicijos, turinčios antiprogestiną ir tinkamą nešiklį, gali būti kietos dozuotos formos, tokios kaip tabletės, kapsulės, žirneliai, rutuliukai, piliulės, milteliai arba granulės; vietinio vartojimo dozuotos formos, tokios kaip tirpalai, milteliai, skystos emulsijos, skystos suspensijos, pusiau kietos formos, tepalai, pastos, kremai, geliai arba želė bei putos; ir parenteralinės dozuotos formos, tokios kaip tirpalai, suspensijos, emulsijos arba sausi milteliai, turinčios efektyvų antiprogestino kiekį, siūlomą šiame išradime. Žinoma, kad aktyvusis ingredientas - antiprogestinas - tokiose kompozicijose gali būti kartu su farmaciškai tinkamais skiedikliais, užpildais,

dezintegrantais, rišikliais, tepikliais, paviršiaus aktyviomis medžiagomis, hidrofobiniais tirpikliais, vandenyje tirpiais tirpikliais, emulgikliais, buferiais, drėkikliais, tirpimą skatinančiomis medžiagomis, konservantais ir kitokiomis medicininės paskirties medžiagomis. Vaisto vartojimo priemonės ir būdai yra žinomi, ir specialistas gali juos rasti įvairiuose farmakologijos literatūros šaltiniuose. Apie juos, pavyzdžiui, galima pasiskaityti "Modern Pharmaceutics", Banker & Rhodes, Marcel Dekker, Inc. 1979; Goodman & Gilman's "The Pharmaceutical Basis of Therapeutics" 6th Edition, McMillan Publishing Co., New York, 1980.

Kai kuriais atvejais gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo ir antiprogestino skyrimas gali persidengti. Tokiu atveju abu komponentai gali būti vartojami kartu, naudojant tą pačią arba skirtingas dozuotas formas arba priemones, pavyzdžiui, jie gali būti toje pačioje tabletėje. Šio išradimo komponentų, kompozicijų ir metodų pritaikymas mediciniam ir/arba farmaciniam panaudojimui, kurie aprašyti šiame tekste, gali būti įgyvendintas bet kokiais klinikiniais, mediciniais arba farmaciniais metodais arba metodikomis, kurios yra žinomos šios srities specialistams dabar, arba bus žinomos ateityje.

Gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogas yra skiriamas vartoti mažiausiai 30 dienų, ir tokio laiko pakanka, kad cirkuliuojančio kraujyje estrogeno kiekis būtų sumažintas iki maždaug 20 pg/ml arba mažiau, o geriausia sumažinti cirkuliuojančio estrogeno kiekį bent iki maždaug 10 pg/ml arba mažiau, tokiu būdu imituojant postmenopauzės estrogeno kiekius. Dabartiniu metu, analogo vartojimas nutraukiamas maždaug po 6 mėnesių, nors yra galimybė, kad jis gali būti pailgintas, jeigu laiku pradedamas kaulų audinį išlaikančio antiprogestino vartojimas. Tinkamiausia dabartinė GnRH agonisto vartojimo trukmė yra apytikriai trys mėnesiai.

Antiprogestino vartojimas pradedamas tada, kai cirkuliuojančio estrogeno kiekis nukrenta iki 20 pg/ml arba mažiau, geriausia iki 10 pg/ml arba mažiau. Antiprogestino vartojimo laikas gali persidengti su gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo vartojimo laiku, gali prasidėti tuoj pat po to, kai nutraukiamas GnRH analogo vartojimas arba gali būti tarpas tarp vartojimo intervalų, tol kol cirkuliuojančio estrogeno kiekis neviršija maždaug 20 pg/ml. Antiprogestino kiekis turi būti toks, kad jis turi inhibuoti estrogeninę gimdos gleivinės proliferaciją, t.y.

antiproliferatyvinis efektyvus kiekis, ir turi būti efektyvus kiekis kaulų audinių išlaikymo atžvilgiu. Šiame kontekste kaulų audinių išlaikymas reiškia tai, kad kaulo masė (tankis) yra arba išlaikomas, arba padidėja. Antiprogestino RU 486 atveju efektyvus kiekis yra paprastai apie 0,05-10,0 mg/kg, geriausia 0,5-5,0 mg/kg per dieną. Kitokių antiprogestinų atveju gali būti charakteringi kitokie miligramų kiekiai. Taigi, kai vartojamas antiproliferatyviškai efektyvus antiprogestino kiekis, gal būti labai nedidelis periodinis kraujavimas arba dėmių pasirodymas mėnesio bėgyje arba metuose. Kitaip sakant, amenorėjos būseną (menstruacinio tipo kraujavimo nebuvimas), nustatyta šiame išradime, yra iš esmės pilna, tačiau nebūtinai absoliuti. Naudojamo antiprogestino, taip pat kaip ir gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo, kiekis gali būti nustatytas, naudojant žinomus šioje srityje metodus, tokius kaip, pavyzdžiui, dozė-atsakas kreivių nustatymas, pasinaudojant primatų modeliais, kurie turi charakteringą gimdos menstruacinį ciklą, panašų į moters, ir ekstrapoliuojant juos žmonėms, ekstrapoliuojant tinkamus *in vitro* sistemų duomenis, arba nustatant efektyvumą klinikiniuose bandymuose. Nustatant tinkamą dozę, gydantysis klinicistas turi atsižvelgti į svorį, amžių ir kitus fizinius ir medicininius parametrus.

Geresniam išradimo pailiustravimui toliau duodama keletas specifinių pavyzdžių. Tačiau reikia turėti omenyje, kad šie pavyzdžiai yra skirti tik iliustracijai ir jie neapriboja išradimo apimties.

1 pavyzdys

Šio tyrimo tikslams gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonistu pasirinktas leuprolido acetatas, antiprogestinu pasirinktas RU 486, ir šie preparatai buvo skiriami šunbeždžionių patelėms, kurios, kaip yra pripažinta, yra labai pageidautinas modelis, tyrinėjant žmogų.

Trisdešimt šešios suaugusios šunbeždžionių patelės (*Macaca fascicularis*), turinčios reguliarius menstruacinius ciklus, apgyvendintos atskiruose garduose, ir jos gavo maistą ir vandenį *ad librium*.

Panaudojant anesteziją (ketaminas 20 mg/kg im, ksilazinas 1 mg/kg) trečią menstruacinio ciklo dieną, padaryta diagnostinė laparoskopija, kad būtų galima išskirti dubens adhezinę ligą arba dar išlikusią endometriozę. Beždžionės, turinčios

pastebimas dubens adhezijas, buvo atmetos. Buvo paimamas kraujas 8-14 menstruacijos dienomis, panaudojant venipunktūrą (ketaminas 10 mg/kg im), ir nustatinėjamas estradiolio-17 β kiekis serume RIA būdu. Praėjus 3-5 dienoms po aiškiai išreikšto preovuliacinio estradiolio piko, vykdoma laparotomija (ketaminas 20 mg/kg, ksilazinas 1 mg/kg). Padarytas 2 cm gimdos dugno prapjovimas, ir apytikriai 100 mg gimdos gleivinės išpjauta ir susmulkinta steriliame 0,9 % fiziologiniame tirpale. Gimdos pjūvis užsiuvas 4-0 vikriolo siūlais. Susmulkintas endometrinis audinys suleidžiamas subperitonealiniu būdu į penkias vietas, būtent į kairiąją ir dešiniąją vezikuterines raukšles, dešinįjį ir kairįjį plačiuosius raiščius ir į aklą maišą.

Sekančio menstruacinio ciklo metu, praėjus 3-5 dienoms po estradiolio priplūdimo ciklo vidurio, atliekama laparotomija. Atžymimas ectopinio endometrinio audinio buvimas ir adhezijų laipsnis ir kruopščiai išmatuojamas peritonealiniais implantantais. Nufotografuojamos visos žaizdos, ir nepriklausomas stebėtojas pažymi jas atsitiktiniais skaičiais tolimesniems histologiniams tyrimams. Iš charakteringų žaizdų paimamos biopsijos, ir audiniai fiksuojami 10 % formaline histologiniams tyrimams, nuspalvinus hematoksilinu ir eozinu.

Primatai padalinami į keturias lygias bandomąsias grupes (N=8). Pirmai grupei kas mėnesį daromos gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonisto, kurio kiekis yra 80 μ g/kg, im injekcijos antrojo laparotominio ciklo 21 menstruacinę dieną. Iš viso padaromos 3 injekcijos kas 28 dienas, tada pradedamos antiprogestino RU 486 injekcijos kartą per savaitę (iš pradžių 5 mg/kg im, aliejuje, po to 2 mg/kg/per savaitę). RU 486 leidžiamas 24 savaites.

Antrai grupei kas savaitę daromos vien tik RU 486 im injekcijos (iš pradžių 5 mg/kg, po to 2 mg/kg/kas savaitę), pradedant nuo 1-os ciklo menstruacinės dienos, po to kai patvirtinama endometrioze. Injekcijos tęsiamos 36 tyrimų savaites. Trečiai grupei duodamos vien tik GnRH analogo dozės 36 savaites. Ketvirtoji grupė buvo kontrolinė ir gavo tirpiklį - 0,5 ml normalaus fiziologinio tirpalo im kas savaitę (iš viso 36 savaites).

Pradėjus kasdienines injekcijas, kas 12 savaitių atliekama laparotomija iki gydymo pabaigos, norin įvertinti ligos progresavimą arba regresiją.

Panaudojus ketamino anesteziją, iš visų grupių kas antrą dieną (iš viso 28 dienas, skaičiuojant nuo gydymo pradžios, kai buvo patvirtinta aktyvi endometrioze), paimamas kraujas. Serumai užšaldomi vėlesnei analizei. Po to, kraujas imamas kas savaitę. Kraujas imamas tol, kol atsinaujina savaiminės menstruacijos, arba du mėnesius po injekcijų pabaigos, priklausomai nuo to, kas yra pirmiau. Serumai užšaldomi, pažymimas ir laikomas vėlesnei radioimuninei analizei. Naudojant RIA, nustatomas estradiolis ir progesteronas (ICN Biomedical, Los Angeles, CA).

Vagininis epitelis gaunamas kiekvienos operacijos metu, Kevorkiano biopsijos replėmis paimant iš makšties viršutinių dviejų trečdalių šoninės pusės.

Beždžionės tiriamos rytinių apžiūrėjimų metu. Stebimi elgesio pokyčiai. Apžiūrima oda, ieškant išbėrimų arba uždegiminių pokyčių ženklų injekcijos vietoje. Apžiūrima tarpvietė, ieškant menstruacijų požymių. Kas mėnuo nustatomas kūno svoris, ir stebimi apetito pokyčiai.

Tuo metu kai imami kraujo mėginiai, renkamas ir šlapimas. Pirmasis mėginys paimamas pirmosios laparatomijos metu, antrasis mėginys paimamas pirmosios injekcijos metu, o sekantys mėginiai imami kas keturios savaitės, skaičiuojant nuo antrojo šlapimo mėginio paėmimo. Stuburo juosmens dalies kaulo mineralų tankiui matuoti panaudota dviguba Rentgeno spindulių absorbcimetrija (DXA, Norland). Primatai anestezuojami ketaminu ir lokalizuojami, kad būtų sumažintas judėjimo artifaktas. DXA atliekama prieš pradedant injekcijas ir kas trys mėnesiai iki eksperimento pabaigos.

Kiekvienos laparatomijos metu atliekamas nedidelis histerotomijos pakartojimas, kad būtų galima paimti gimdos gleivinės mėginius histologiniams tyrimams.

Buvo pastebėta, kad tiek antiprogestinas, tiek ir GnRH analogas, atskirai paimti, duoda ovuliacijos sumažinimą. Per 24 mėnesius buvo užregistruota tik viena ovuliacija (progesteronas > 3 ng/ml) kiekvienoje iš 1-3 grupių, lyginant su 18 pastebimų ovuliacijų per 24 mėnesius 4-je kontrolinėje grupėje (tik tirpiklis). Vidutiniai toniniai serumo estradiolio kiekiai buvo skirtingi atskirose grupėse, kas parodyta fig.1. GnRH analogu paveiktoje grupėje nuslopinimas daug vienesnis ($24,2 \pm 17$ pg/ml), tuo tarpu kai kontrolinės grupės estrogeno kiekiai keitėsi daug platesnėse ribose ($40,6 \pm 43$

pg/ml), ko ir buvo galima tikėtis. Įdomu tai, kad RU 486 paveiktoje grupėje cirkuliacijoje buvo didesnis vidutinis estradiolio kiekis, negu bet kurioje kitoje grupėje ($57,8 \pm 34,6$, Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Ektopinės gimdos gleivinės plotas, matomas ant peritonealinių paviršių, parodytas fig.2. Plotai prieš apdorojimą buvo panašūs visose grupėse (ANOVA, $p > 0,1$). Plotas po apdorojimo labai skyrėsi nuo plotų prieš apdorojimą 1, 2 ir 3 grupėje ir nuo ploto po apdorojimo kontrolinėje 4-je grupėje (Wilcoxon, $p < 0,05$). Šie duomenys rodo, kad ir GnRH analogas, ir antiprogestinas turi neabejotinai ribojančią įtaką į endometrinių implantatų dydį. Pirmojoje grupėje, kurioje primatams buvo leidžiamas RU 486 tris mėnesius po to kai buvo baigtas GnRH kursas, vidutinis peritonealinės ligos plotas išliko nepakitęs.

Kaulų tankio nustatymo dvigubos Rentgeno spindulių absorbcimetrijos metodu rezultatai yra:

Grupė	Prieš apdorojimą (vidurkis $\pm$ SN)	po 3 mėn.	po 6 mėn.
analogas/antiprogestinas	$0,481 \pm 0,046$	$0,481 \pm 0,056$	$0,049 \pm 0,046$
antiprogestinas	$0,501 \pm 0,029$	$0,541 \pm 0,033^*$	NA
kontrolė	$0,441 \pm 0,028$	$0,446 \pm 0,047$	NA

*Suporuotas t-testas, $p = 0,08$, lyginant su tankiu prieš apdorojimą.

Po trijų mėnesių tik GnRH arba tirpiklio (kontrolė) vartojimo kaulų tankio pokyčių nebuvo. To buvo galima laukti, kadangi statistškai kaulų audinio nykimas populiacijoje pasidaro pastebimas kartais tik tarp 3 ir 6 mėnesių. Trijų gyvuliukų kaulų audinio nykimas 1-je grupėje pastebėtas po 3 mėnesių gydymo GnRH analogu, o kitų gyvuliukų kaulų tankis buvo nepakitęs arba padidėjęs. Greito beždžionės-2190 kaulų audinio nykimo pavyzdys ir duomenys šio atvejo atžvilgiu parodyti fig.3. Didelis kaulų audinio nykimo laipsnis po trijų mėnesių gydymo GnRH analogu yra aiškiai pastebimas. Gydymas antiprogestinu neutralizavo šį nykimą, ir po 3 mėnesių gydymo antiprogestinu buvo aiškus kaulų tankio padidėjimas (suporuotas t-testas, $p = 0,08$).

Kasdieniniai gyvuliukų būsenos stebėjimai parodė mažus elgesno pokyčius, uždegiminius odos pokyčius bei dietos įpročių pakitimus. Gyvuliukų svoriai, nustatomi kartą per mėnesį, beveik nekito nei vienoje grupėje.

Gimdos gleivinės ir makšties epitelio tyrimai, panaudojant hematoksiliną ir nuspalvinimą eozinu, parodyti lentelėje:

Grupė	Gimdos gleivinė		Makšties epitelis ir keratinas
	Menstruacinė fazė	Storis	
Tik analogas	neaktyvi, anksti proliferuojanti	plona	plona
Analogas/antiprogestinas	fazė su tarpais, statinė	vid. storio	vid. storio
Kontrolė	ciklinė	vid. storio, kintama	ciklinis

GnRH analogu paveikta gimdos gleivinė buvo vienodai plona ir silpnai proliferuojanti. Antiprogestinu paveikta gimdos gleivinė buvo plonesnė negu kontrolinių beždžionių, tačiau pastoviai pasirodė su tarpais esanti fazė, būtent 17-tą tipiško normalaus menstruacinio ciklo dieną. Kontroliniai primatai turėjo cikliškai kintančią gimdos gleivinę, storesnę visomis biopsijos dienomis negu bet kurios iš kitų bandomųjų grupių. Makšties epitelio storiai, keratino sluoksnis ir storis prie tinklo pririšimo pagrindo buvo didesni antiprogestinu gydomojoje grupėje, negu GnRH analogo grupėse. Kontrolinės grupės duomenys buvo kintami, bet keratino sluoksnis buvo storesnis už sluoksnį po gydymo GnRH analogu.

Ektopinės endometrinės žaizdos, panašiai kaip ir *in situ* gimdos gleivinės, laipsniškai regresavo trijų mėnesių terapijos eigoje, ir endometriniai pokyčiai atsirasdavo greičiau, gydant gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogu negu vien tik antiprogestinu. Šie rezultatai rodo, kad antiprogestinas gali sustiprinti peritonealinės endometriozės sumažintą paviršių, nutraukus gydymą analogu. Kontrolinių primatų endometriozė nepagerėja savaime, ir, iš tikrųjų, endometrinės žaizdos trijų mėnesių laikotarpyje palaipsniui blogėja.

Buvo identifikuoti trys iš tyrimuose naudotų primatų, kurių kaulų mineralinės medžiagos nyksta greitai, kai sukeliamas hipoeostrogenizmas, panaudojus gydymą GnRH analogu. Buvo parodyta, kad kaulų tankis sugrįžta iki bazinės linijos,

panaudojus antiprogestiną tris mėnesius. Bendrai imant, antiprogestinu gydyti primatai turi geroką kaulų tankio padidėjimą, lyginant su bazinės linijos matavimais. Makšties atrofijos, kuri yra gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogų problema, nepastebėta. Makšties epitelis ir keratino sluoksnis buvo storesnis antiprogestinu gydytoje grupėje - būseną, kuri paprastai pasireiškia sumažintu šlapimo nesuvaldymu ir sumažinta disurija. Apart šių poveikio į kaulus ir makšties epitelį privalumų, gimdos gleivinė išlieka palyginus plona, lyginant su negydytomis ciklinės funkcijos kontrolinėmis beždžionėmis, ir šis efektas priskiriamas antiprogestino proliferaciniam poveikiui.

2 - 10 pavyzdžiai

Pirmame pavyzdyje aprašytas gydymo režimas pakartotas, esant tokioms agentų kombinacijoms:

Pavyzdys	Analogas	Antiprogestinas
2	nafarelinas	onapristonas
3	buzerelinas	lilopristonas
4	antidas	11β-(4-acetilfenil)-17β-hidroksi-17α-(1-propinil)-4,9-estradien-3-onas
5	gozerelinas	11β-(4-acetilfenil)-17β-hidroksi-17α-3-hidroksi-1(2)-propenil)-4,9-estradien-3-onas
6	histrelinas	mifepristonas
7	lutrelinas	onapristonas
8	tristorelinas	lilopristonas
9	Nal-Glu	mifepristonas
10	azalinas B	mifepristonas

Šiame išradime gali būti padaryti įvairūs pakeitimai ir modifikacijos, nenukrypstant nuo jo prasmės ir objekto. Įvairūs realizavimo variantai, kurie čia aprašyti ir pailiustruoti, yra skirti tik iliustracijai ir neriboja jo apimties.

APIBRĖŽTIS

1. Priemonė būsenų, priklausančių nuo kiaušidžių estrogenų, gydymui, besiskirianti tuo, kad ją sudaro gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo kombinacija su antiprogestinu, kurioje gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogo kiekis yra toks, kad jo pakanka kraujyje cirkuliuojančių estrogenų kiekiui sumažinti iki apytikriai 20 pg/ml arba mažiau, o antiprogestino kiekis yra antiproliferacinis ir išlaikantis kaulų audinį.
2. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad analogas yra gonadotropiną išlaisvinančio hormono agonistas.
3. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad analogas yra gonadotropiną išlaisvinančio hormono antagonistas.
4. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad gonadotropiną išlaisvinančio hormono analogas naudojamas sumažinti cirkuliuojančių kraujyje estrogenų kiekiui iki apytikriai 10 pg/ml arba mažiau.
5. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad antiprogestinas yra progesterino receptorių antagonistas.
6. Priemonė pagal 5 punktą, besiskirianti tuo, kad antiprogestinas yra mifepristonas.
7. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad antiprogestino kiekis yra toks, kad jo pakanka gauti pastoviai amenorėjai.
8. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad būseną, priklausančią nuo kiaušidžių estrogenų, yra endometriozė.
9. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad būseną, priklausančią nuo kiaušidžių estrogenų, yra gimdos leiomioma.
10. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad būseną, priklausančią nuo kiaušidžių estrogenų, yra priešmenstruacinis sindromas.
11. Priemonė pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad būseną, priklausančią nuo kiaušidžių estrogenų, yra disfunkcinis gimdos kraujavimas.

Fig.1

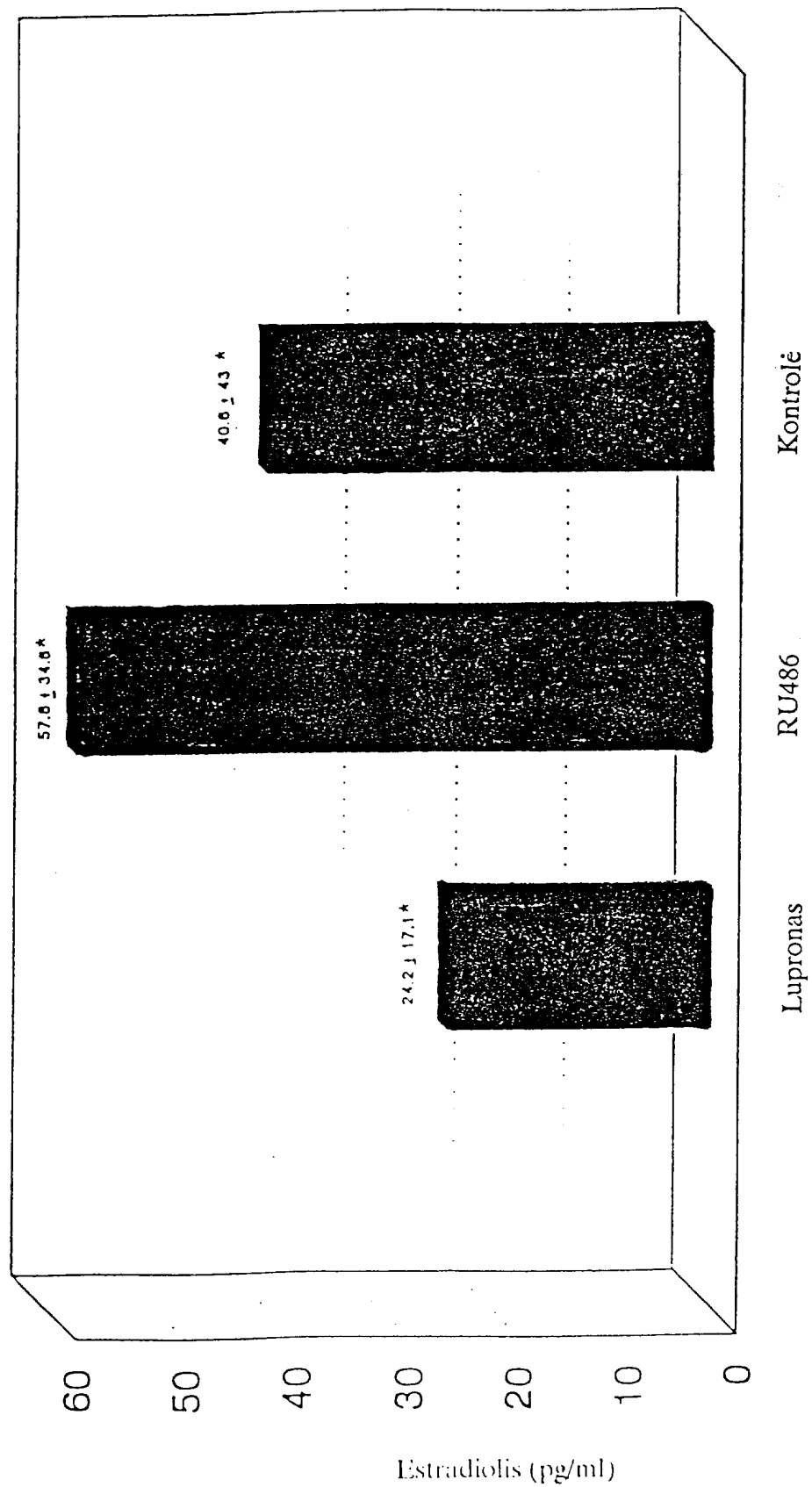


Fig.2

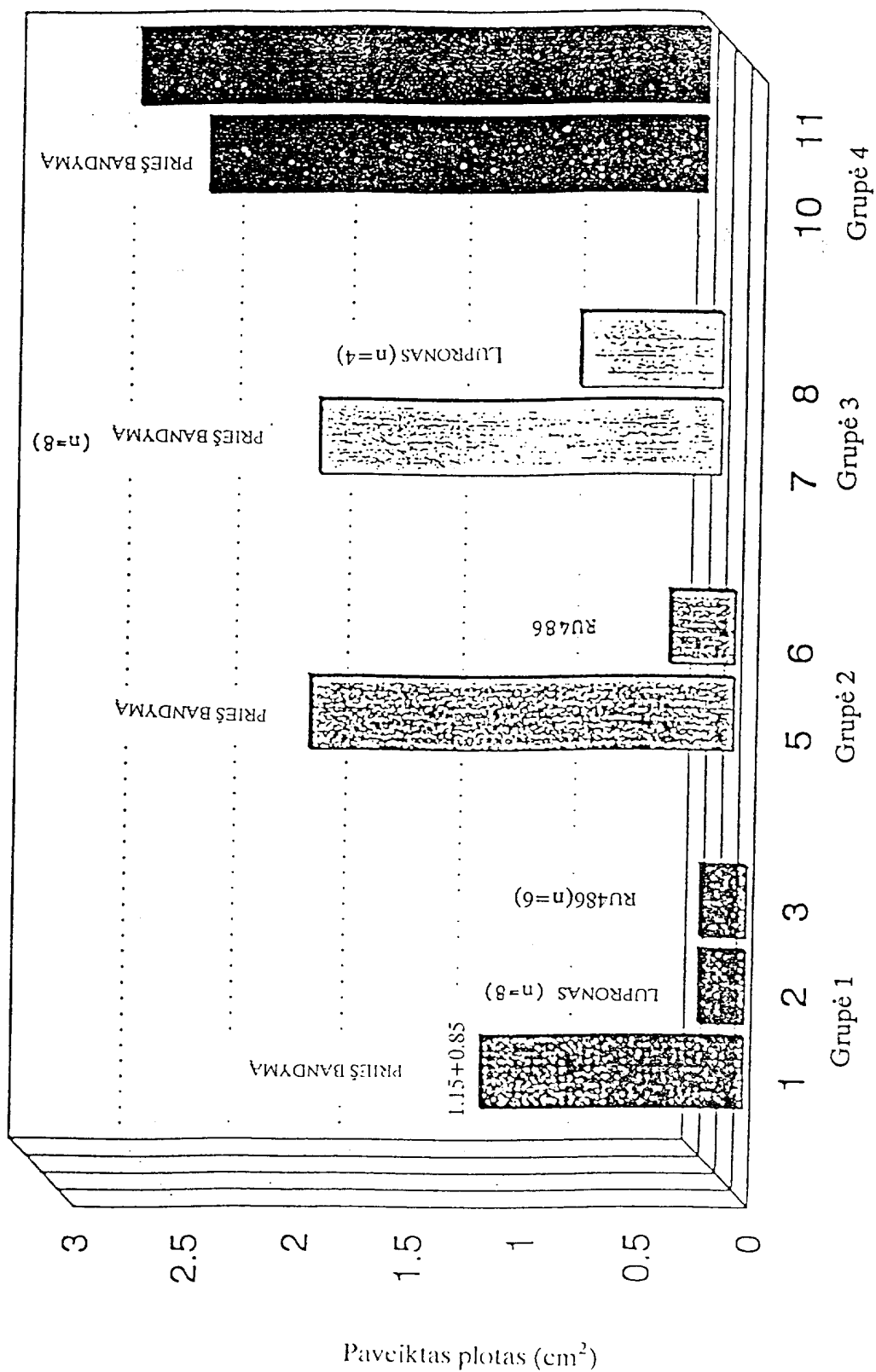


Fig.3

