

(19)



(10) **LT 2013 016 A**

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

- (21) Paraiškos numeris: **2013 016** (51) Int. Cl. (2013.01): **A61K 39/00**
C07K 16/00
- (22) Paraiškos padavimo data: **2013 02 14**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2013 11 25**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/IB2011/002350**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **2011 07 15**
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2013 02 14**
- (30) Prioritetas: **2011127059, 2011 07 01, RU**
2010129295, 2010 07 15, RU
2010130353, 2010 07 21, RU
2011127052, 2011 07 01, RU
2010129290, 2010 07 15, RU
2010130356, 2010 07 21, RU
2011127051, 2011 07 01, RU
2011127055, 2011 07 01, RU
2010129291, 2010 07 15, RU
2011127058, 2011 07 01, RU
2010129298, 2010 07 15, RU
2010129292, 2010 07 15, RU
2010129294, 2010 07 15, RU
2011110106, 2011 03 17, RU
2010130358, 2010 07 21, RU
2010130355, 2010 07 21, RU
2010130348, 2010 07 21, RU
2011127053, 2011 07 01, RU
- (71) Pareiškėjas:
Oleg Illich EPSHTEIN, 4 Samotyochny per. 3-72, 127473 Moscow, RU
- (72) Išradėjas:
Oleg Iljiich EPSHTEIN, RU
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Gediminas PRANEVIČIUS, Advokatų kontora VARUL, Konstitucijos pr. 7, LT-09308 Vilnius, LT

LT 2013 016 A

(54) Pavadinimas:

Aktyvuotos-potencijuotos formos antikūno poveikio padidavimo būdas

(57) Referatas:

Šiame išradime yra pateikiamas antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotos-potencijuotos formos poveikio padidavimo būdas, sumaišant minėtą endogeninę biologinę molekulę su antikūno prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuota-potencijuota forma. Šiame išradime taip pat pateikiama farmacinė kompozicija, apimanti a) antikūno prieš endogeninę-biologinę molekulę aktyvuotą-potencijuotą formą ir b) antikūno prieš NO-sintazę aktyvuotą-potencijuotą formą.

AKTYVUOTOS-POTENCIJUOTOS ANTIKŪNO FORMOS POVEIKIO SUSTIPRINIMO BŪDAS

TECHNIKOS SRITIS

Šis išradimas yra susijęs su aktyvuotos-potencijuotos antikūno formos poveikio sustiprinimo būdu ir farmacine kompozicija, į kurią įeina aktyvuota-potencijuota antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę ir aktyvuota-potencijuota antikūno prieš endotelinę NO-sintazę forma.

TECHNIKOS LYGIS

Azoto oksidas (NO) yra dujinė molekulė, kuri, kaip buvo parodyta, veikia perduodant signalą įvairiuose biologiniuose procesuose. Endotelinis NO yra pagrindinė vaskuliarinę tonusą reguliuojanti molekulė, ir jos ryšys su kraujagyslių ligomis yra pripažintas pakankamai seniai. NO inhibuoja daugelį procesų, kurie yra žinomi kaip turintys ryšį su aterosklerozinės plokštelės susidarymu, įskaitant monocitų adheziją, trombocitų agregaciją ir vaskuliariųjų lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją. Kitas svarbus endotelinio NO vaidmuo yra vaskuliarinės sienelės apsauga nuo oksidacinio streso, kurį sukelia jo paties metaboliniai produktai ir lipidų bei lipoproteinų oksidacijos produktai. Endotelio funkcijos sutrikimas atsiranda labai ankstyvose aterosklerozės stadijose. Todėl galimas daiktas, kad lokalinio NO prieinamumo stoka yra galutinė bendra priežastis, dėl kurios greitėja žmonių aterogenezė. Buvo parodyta, kad apart jo vaidmens vaskuliariname endotelyje, NO prieinamumas moduliuoja lipoproteinų metabolizmą. Buvo paskelbta apie neigiamą koreliaciją tarp NO metabolinių produktų koncentracijos plazmoje ir bendrojo ir mažo tankio lipoproteinų (MTL) cholesterolio kiekio plazmoje, tuo tarpu kai didelio tankio lipoproteinai (DTL) gerina hipercholesteroleminių subjektų vaskuliarinę funkciją. NO netekimas turi ryškų poveikį šios ligos atsiradimui. Cukrinis diabetas yra susijęs su padidintais sergamumo ir mirtingumo rodikliais pirmiausia dėl pagreitinoto aterosklerozės išsivystymo. Be to, yra parodyta, kad diabetikų plaučių funkcijos yra pablogėję. Buvo pateiktas teiginys, kad rezistentiškumas

insulinui sukelia kvėpavimo takų uždegimą. Habib et al., *Nitric Oxide Measurement From Blood To Lungs, Is There A Link?* Pak J Physiol 2007; 3(1).

Azoto oksidą sintetuoja endotelis iš L-arginino veikiant azoto oksido sintazei (NO sintazei). Atsiranda įvairių izoformų NO sintazė, įskaitant konstitutyvinę formą (cNOS) ir indukuotą formą (iNOS). Konstitutyvinė forma yra normaliose endotelinėse ląstelėse, neuronuose ir kai kuriuose kituose audiniuose.

Ypatingai praskiestos formos (arba ultra-mažos formos) antikūnų, potencijuotų panaudojant homeopatinę technologiją, (aktyvuota potencijuota forma) terapinį poveikį atrado Dr. Oleg I. Epshtein. JAV patente Nr. 7700096 aprašoma homeopatiškai potencijuota antikūnų forma prieš endotelinę NO-sintazę. Homeopatiškai potencijuota antikūnų forma prieš endotelinę NO-sintazę prekiauja Rusijos Federacija ir kitos šalys; jos prekinis ženklas yra Impaza®.

Taigi išlieka pastovus poreikis surasti būdą aktyvuotos-potencijuotos antikūno formos poveikiui sustiprinti.

IŠRADIMO ESMĖ

Pagal vieną aspektą, šiame išradime pateikiamas aktyvuotos-potencijuotos formos antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę poveikio sustiprinimo būdas, apimantis minėtos endogeninės biologinės molekulės sumaišymą su aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnu prieš endotelinę NO-sintazę. Geriau, kai išradimo metodas pagal šį aspektą apima minėto derinio skyrimą pacientui, kuriam reikalingas gydymas minėta aktyvuota-potencijuota antikūno forma.

Viename variante minėtos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę yra antikūnas prieš S-100 baltymą. Kitame variante minėtos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę yra antikūnas prieš prostatos specifinį antigeną. Kitame variante minėtos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę yra antikūnas prieš insulino receptorių. Dar kitame variante minėtos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę yra antikūnas prieš angiotenzino receptorių II.

Pagal kitą aspektą, šiame išradime pateikiama farmacinė kompozicija, apimanti a) aktyvuotos-potencijuotos formos antikūną prieš endogeninę biologinę molekulę ir b) aktyvuotos-potencijuotos formos antikūną prieš NO-sintazę. Geriau, kai farmacinė kompozicija yra farmaciškai priimtinas kietas nešiklis. Geriau, kai antikūno prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuota-potencijuota forma yra mišinys iš C12, C30 ir C-200 homeopatinių praskiedimų, kuriais impregnuotas šis kietas nešiklis. Aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę gali būti monokloninis, polikloninis arba natūralus antikūnas. Geriau, kai antikūnas prieš žmogaus insulino receptorių yra polikloninis antikūnas.

Turima omenyje, kad ši farmacinė kompozicija apima antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotą-potencijuotą formą, pagamintą panaudojant seką vieno po kito einančių 100-kartinių praskiedimų, susietų su kiekvieno praskiedimo supurtymu. Taip pat turima omenyje, kad antikūnas prieš endotelinę NO-sintazę yra monokloninis, polikloninis arba natūralus antikūnas. Ypatingai pageidautina, kad antikūnas prieš endotelinę NO-sintazę būtų polikloninis antikūnas. Turima omenyje, kad antikūno prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuota-potencijuota forma yra pagaminama panaudojant seką vieno po kito einančių 100-kartinių praskiedimų, susietų su kiekvieno praskiedimo supurtymu.

TRUMPAS BRĖŽINIŲ FIGŪRŲ APRAŠYMAS

Fig. 1 iliustruoja tirtųjų preparatų poveikį į žiurkių, turinčių streptozotocinu sukeltą cukrinį diabetą, gliukozės kiekį kraujo plazmoje.

Fig. 2 iliustruoja tirtųjų preparatų poveikį 14-tą dieną po injekcijos į ploto po koncentracijos priklausomybės nuo laiko kreivę (AUC) gliukozės tolerancijos tyrime su žiurkėmis, turinčiomis streptozotocinu sukeltą cukrinį diabetą.

Fig. 3 iliustruoja tirtųjų preparatų poveikį į žiurkių, turinčių spontaninį nuo insulino nepriklausomą cukrinį diabetą, gliukozės kiekį kraujo plazmoje.

Fig. 4 iliustruoja tirtųjų preparatų poveikį 28-tą dieną po injekcijos į ploto po koncentracijos priklausomybės nuo laiko kreivę (AUC) gliukozės tolerancijos tyrime su žiurkėmis, turinčiomis spontaninį nuo insulino nepriklausomą cukrinį diabetą.

IŠSAMUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

Šis išradimas yra apibūdintas remiantis aprašymo gale pridėta apibrėžtimi. Dėl šios apibrėžties toliau einančiame terminų aprašyme pateikiami su ja susiję apibrėžimai.

Čia naudojamas terminas „antikūnas“ reiškia imunoglobuliną, kuris specifiškai jungiasi prie tam tikros erdvinės ir polinės organizacijos kita molekulė (ir todėl apibrėžiamas kaip komplementarus su ja). Apibrėžties punktuose išvardinti antikūnai gali apimti visą imunoglobuliną arba jo fragmentus, gali būti natūralūs, polikloniniai arba monokloniniai ir gali apimti įvairias klases ir izotipus, tokius kaip IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b, ir IgG3, IgM ir t.t. Jų fragmentai gali apimti Fab, Fv ir F(ab')₂, Fab' ir panašius. Singularinis „antikūnas“ apima pliuralinius „antikūnus“.

Terminas „aktyvuota-potencijuota forma“ arba atitinkamai „potencijuota forma“ čia minimų antikūnų atžvilgiu yra naudojamas bet kokio pradinio antikūnų tirpalo homeopatinės potenciacijos produktui pažymėti. „Homeopatinė potenciacija“ reiškia homeopatinį metodą panaudojimą homeopatinei potencijai suteikti pradinio tam tikros medžiagos tirpalo atžvilgiu. Nors ir nėra tuo apribota, „homeopatinė potenciacija“ gali apimti, pavyzdžiui, pakartotinus vienas po kito einančius skiedimus, susietus su išoriniu apdorojimu, ypatingai vertikaliu (mechaniniu) purtymu. Kitaip tariant, pradinis antikūno tirpalas yra daug kartų skiedžamas ir kiekvienas gautas tirpalas daug kartų vertikaliai purtomas pagal homeopatinę technologiją. Tinkamiausia pradinio antikūno tirpalo koncentracija tirpiklyje (geriau vandenyje arba vandens-etilo alkoholio mišinyje) yra nuo maždaug 0,5 iki maždaug 5,0 mg/ml. Tinkamiausia kiekvieno komponento, t.y. antikūno tirpalo, pagaminimo metodika yra pirminio matricinio antikūnų tirpalo (motininės tinktūros) mišinio trijų antikūno vandeninių arba vandeninių-alkoholinių praskiedimų, praskiestų atitinkamai 100¹², 100³⁰ ir 100²⁰⁰ kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams (C12, C30 ir C200), panaudojimas arba pirminio matricinio antikūnų tirpalo trijų antikūno vandeninių arba vandeninių-alkoholinių praskiedimų, praskiestų atitinkamai 100¹², 100³⁰ ir 100⁵⁰ kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams (C12, C30 ir C50), panaudojimas. Homeopatinės potenciacijos pavyzdžiai yra aprašyti JAV patentuose Nr. 7572441 ir 7582294, kurie yra įtraukti čia kaip literatūros šaltiniai ir aukščiau minėtam tikslui. Kadangi terminas „aktyvuota-potencijuota forma“ yra naudojamas apibrėžtyje,

pavyzdžiuose yra naudojamas terminas „ultra-mažos dozės“. Terminas „ultra-mažos dozės“ tapo terminu, kuris buvo sukurtas šioje mokslo srityje, atsiradusioje tiriant ir naudojant homeopatiškai praskiestą ir potencijuotą medžiagos formą. Terminas „ultra-maža dozė“ arba „ultra-mažos dozės“ yra pilnai palaikantis ir visų pirma yra sinonimiškas apibrėžtyje naudojamam terminui „aktyvuota-potencijuota“ forma.

Kitaip tariant, antikūnas yra „aktyvuotos-potencijuotos“ arba „potencijuotos“ formos, kada yra trys faktoriai. Pirma, „aktyvuota-potencijuota“ antikūno forma yra homeopatinėje srityje gerai žinomo gamybos proceso produktas. Antra, „aktyvuota-potencijuota“ antikūno forma turi turėti biologinį aktyvumą, nustatomą visų pripažintais moderniosios farmakologijos metodais. Ir trečia, „aktyvuotos-potencijuotos“ antikūno formos turimas biologinis aktyvumas negali būti paaiškintas homeopatinio proceso galutinio produkto antikūno molekuline forma.

Pavyzdžiui, antikūnų aktyvuota-potencijuota forma gali būti paruošta paveikiant pradinę išskirto antikūno molekulinę formą daugeliu vienas po kito einančių praskiedimų, susietų su išoriniu poveikiu, tokiu kaip mechaninis purtymas. Išorinis poveikis koncentracijos mažinimo eigoje taip pat gali būti vykdomas, pavyzdžiui, veikiant ultragarsiniu, elektromagnetiniu arba kitais fizikiniais faktoriais. V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, JAV patentuose Nr. 7229648 ir 4311897, kurie yra pridedami kaip literatūros šaltiniai ir minėtiems tikslams, yra aprašyti tokie būdai, kurie yra visų pripažinti homeopatinės potenciacijos metodais homeopatijos srityje. Ši metodika duoda galimybę gauti vienodą pradinės molekulinės formos antikūno molekulių koncentracijos mažėjimą. Ši procedūra kartojama tol, kol pasiekiamas norimas homeopatinis pajėgumas. Individualiam antikūnui reikiamas homeopatinis pajėgumas gali būti nustatytas atliekant tarpinių praskiedimų biologinį testavimą pagal norimą farmakologinį modelį. Nors tai ir neapriboja, „homeopatinė potenciacija“ gali apimti, pavyzdžiui, pakartotinius vienas po kito einančius skiedimus, susietus su išoriniu poveikiu, ypatingai vertikaliu (mechaniniu) purtymu. Kitaip tariant, pradinis antikūno tirpalas yra skiedžiamas daug vienas po kito einančių kartų ir kiekvienas gautas tirpalas daug kartų vertikaliai purtomas pagal homeopatinę technologiją. Tinkamiausia pradinio antikūno tirpalo koncentracija tirpiklyje (geriau vandenyje arba vandens-etilo alkoholio mišinyje) yra nuo maždaug 0,5 iki maždaug 5,0 mg/ml. Tinkamiausia kiekvieno komponento t.y. antikūno tirpalo, pagaminimo metodika yra panaudojimas mišinio trijų

antikūno vandeninių arba vandeninių-alkoholinių praskiedimų pirminio matricinio antikūnų tirpalo (motininės tinktūros), praskiestų atitinkamai 100^{12} , 100^{30} ir 100^{200} kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams C12, C30 ir C200 arba panaudojimas mišinio trijų antikūno vandeninių arba vandeninių-alkoholinių praskiedimų pirminio matricinio antikūnų tirpalo (motininės tinktūros), praskiestų atitinkamai 100^{12} , 100^{30} ir 100^{50} kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams C12, C30 ir C50. Pavyzdžiai, kaip gauti norimą pajėgumą, yra pateikti, pavyzdžiui, JAV patentuose Nr. 7229646 ir 4311897, kurie yra įtraukti čia kaip literatūros šaltiniai ir aukščiau minėtam tikslui. Metodika, tinkama čia aprašyti „aktyvuotai-potencijuotai“ antikūnų formai gauti, smulkiai aprašoma toliau.

Požiūris į žmonių homeopatinį gydymą yra gana kontroversiškas. Nepaisant to, kad šis išradimas susijęs su priimtomis homeopatinėmis metodikomis „aktyvuotai-potencijuotai“ antikūnų formai gauti, jis nesiremia vien tik žmonių homeopatija aktyvumo požiūriu. Šios paraiškos išradėjai netikėtai atrado ir, naudodami priimtus farmakologinius modelius, pakankamai aiškiai pademonstravo, kad tirpiklis, galiausiai gautas iš vienas po kito einančių antikūno pradinės molekulinės formos praskiedimų, turi apibrėžtą aktyvumą, nesusijusį su buvimu šio antikūno molekulinės formos pėdsakų tiksliniame praskiedime. Čia yra pateiktas „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūno biologinis aktyvumas naudojant visų pripažintus farmakologinius aktyvumo modelius tiek *in vitro* eksperimentuose, tiek ir *in vivo* tyrimuose su tinkamais gyvūnų modeliais. Žemiau aprašyti eksperimentai pateikia biologinio aktyvumo įrodymus šiuose modeliuose. Žmonių klinikiniai tyrimai taip pat rodo, kad aktyvumas, pastebėtas bandymuose su gyvūnais, gali būti gerai pritaikomas žmonių terapijoje. Tyrimai su žmonėmis taip pat rodo, kad čia aprašytos „aktyvuotos-potencijuotos“ formos gali būti tinkamos tam tikrų žmonių ligų arba sutrikimų, kurie medicinos moksle yra visuotinai priimti kaip patologinės būklės, gydymui.

Be to, apibrėžties antikūno „aktyvuota-potencijuota forma“ apima tik tirpalus arba kietus preparatus, kurių biologinio aktyvumo negalima paaiškinti molekulinės formos antikūno, likusio iš pradinio, startinio tirpalo, biologiniu aktyvumu. Kitaip tariant, nors ir galima manyti, kad antikūno „aktyvuotoje-potencijuotoje“ formoje gali būti pradinės molekulinės formos antikūno pėdsakai, šios srities specialistai su tam tikru patikimumo laipsniu negalėtų priskirti stebimo biologinio aktyvumo priimtuose farmakologiniuose

modeliuose likusio antikūno molekulinėi formai dėl ypatingai mažų šio antikūno molekulinės formos koncentracijų, likusių po vienas po kito einančių praskiedimų. Nors išradimas ir nėra apribotas kokios nors konkrečios teorijos, šio išradimo „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūnų biologinis aktyvumas nėra priskirtinas antikūno pradinei molekulinėi formai. Geriau, kai „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūnas yra skystoje arba kietoje formoje, kurioje molekulinės formos antikūno koncentracija yra žemiau visuotinai priimtų analitinių metodų, tokių kaip kapiliarinė elektroforezė arba didelio efektyvumo skysčių chromatografija, detektavimo ribos. Ypatingai gerai, kai „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūnas yra skystoje arba kietoje formoje, kurioje molekulinės formos antikūno koncentracija yra mažesnė už Avogadro skaičių. Terapinių medžiagų molekulių formų farmakologijoje įprasta konstruoti dozės-atsako kreivę, kurioje braižoma farmakologinio atsako priklausomybė nuo subjektui skiriamos arba testuojamos *in vitro* veikliosios medžiagos koncentracijos. Mažiausias vaisto kiekis, kuris duoda kokį nors detektuojamą atsaką, yra žinomas kaip slenkstinė dozė. Ypatingai svarstyti ir pageidautina, kad „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūnai, turėtų molekulinės formos antikūno (jeigu apamai jo turi) koncentraciją, mažesnę už molekulinės formos antikūno slenkstinę dozę duotam biologiniam modeliui.

Derinio farmacinė kompozicija pagal šį išradimo aspektą gali būti skystos formos arba kietos formos. Visos farmacinėje kompozicijoje esančios antikūnų aktyvuotos-potencijuotos formos yra pagamintos iš pradinės molekulinės antikūno formos, panaudojant homeopatijos srityje priimtus būdus. Pradiniai antikūnai gali būti monokloniniai arba polikloniniai antikūnai, gauti žinomais būdais, pavyzdžiui tokiais, kaip aprašyti imunotechnikoje. G. Frimel, M., „Meditsyna“, 1987, p. 9-33; „Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after“ by Laffly E., Sodoyer R. – 2005 – Vol. 14. – N 1-2. P.33-55; abu jie pridedami kaip literatūros šaltiniai.

Monokloniniai antikūnai gali būti gaunami, pvz., panaudojant hibridomų technologiją. Pradinė proceso stadija apima imunizaciją, paremtą principais, jau išstobulintais gaminant polikloninius antiserumų preparatus. Kitos darbo stadijos apima hibridinių ląstelių, generuojančių identiško specifiškumo antikūnų klonus, paruošimą. Jų išskirstymas atliekamas naudojant tuos pačius metodus, kaip ir polikloninio antiserumo gavimo atveju.

Polikloniniai antikūnai gali būti gaunami panaudojant aktyviąją gyvūnų imunizaciją. Šiam tikslui, pavyzdžiui, tinkami gyvūnai (pvz. triušiai) gauna eilę atitinkamo antigeno, pavyzdžiui NO sintazės, injekcijų. Gyvūno imuninė sistema generuoja atitinkamus antikūnus, kurie išskiriami iš gyvūnų žinomu būdu. Ši metodika duoda galimybę gauti monospecifiniu antikūnu praturtintą serumą.

Jeigu norima, antikūnų turintis serumas gali būti gryninamas, pavyzdžiui, naudojant giminingumo chromatografiją, frakcionavimą nusodinant druska arba jonų mainų chromatografiją. Gautas išgrynintas antikūnu praturtintas serumas gali būti naudojamas kaip pradinė medžiaga antikūnų aktyvuotai-potencijuotai formai gauti. Tinkamiausia gauto pradinio antikūno tirpalo koncentracija tirpiklyje (geriau vandenyje arba vandens-etilo alkoholio mišinyje) yra nuo maždaug 0,5 iki maždaug 5,0 mg/ml.

Tinkamiausia kiekvieno šio išradimo derinio vaisto komponento pagaminimo metodika yra panaudojimas mišinio trijų antikūno vandeninių arba vandeninių-alkoholinių praskiedimų pirminio matricinio antikūnų tirpalo, praskiesto atitinkamai 100^{12} , 100^{30} ir 100^{50} kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams C12, C30 ir C50 arba praskiesto 100^{12} , 100^{30} ir 100^{200} kartų, kas yra ekvivalentiška 100-kartiniais homeopatiniais praskiedimams C12, C30 ir C200. Norint pagaminti šio išradimo derinio kietą dozuotą vienetinę formą, nešiklio masė yra veikama norimu praskiedimu, gautu homeopatinio proceso metu. Norint pagaminti šio išradimo derinio kietą dozuotą formą, nešiklio masė impregnuojama kiekvienu praskiedimu. Norimo derinio dozuotai formai paruošti tinka abi impregnavimo tvarkos.

Tinkamiausiame išradimo įgyvendinimo variante pradinė medžiaga aktyvuotai potencijuotai formai, kurią apima šio išradimo derinys, gauti yra polikloninis gyvūne sukeltas antikūnas prieš atitinkamą antigeną, būtent NO sintazę ir endogeninę biologinę molekulę. Norint gauti polikloninių antikūnų prieš NO sintazę aktyvuotą-potencijuotą formą, norimas antigenas gali būti suleidžiamas kaip imunogenas laboratoriniam gyvūnui, geriausia triušiams. Polikloniniai antikūnai prieš NO sintazę gali būti gaunami naudojant visą jaučio NO sintazės molekulę, kurios seka yra tokia:

SEQ ID NO: 1

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Gly Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys

1				5					10					15
Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Gly	Lys	Gln	Gly
16				20					25					30
Pro	Ala	Ser	Pro	Ala	Pro	Glu	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Pro	Ala
31				35					40					45
Thr	Pro	His	Ala	Pro	Asp	His	Ser	Pro	Ala	Pro	Asn	Ser	Pro	Thr
46				50					55					60
Leu	Thr	Arg	Pro	Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn
61				65					70					75
Trp	Glu	Leu	GLys	er	Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Cys	Ala	Gln	Ser
76				80					85					90
Gln	Gln	Asp	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Arg	Cys	Cys	Leu	GLy	Ser	Leu
91				95					100					105
Val	Leu	Pro	Arg	Lys	Leu	Gln	Thr	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro
106				110					115					120
Pro	Ala	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln
121				125					130					135
Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	GLys	Ser	Gln	Ala	His	Glu	Glu
136				140					145					150
Arg	Leu	Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ser	Thr	Gly	Thr	Tyr
151				155					160					165
His	Leu	Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala	Lys	Gln	Ala	Trp
166				170					175					180
Arg	Asn	Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys	Leu
181				185					190					195
Gln	Val	Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Ser	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe
196				200					205					210
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn
211				215					220					225
Leu	Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Ala	Pro	Gly	Arg
226				230					235					240
Gly	Asp	Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly
241				245					250					255
Tyr	Arg	Gln	Gln	Asp	GLy	Ser	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val
256				260					265					270
Glu	Ile	Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn
271				275					280					285
Gly	Arg	Phe	Asp	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu
286				290					295					300
Ala	Pro	Glu	Leu	Phe	Val	Leu	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Val
301				305					310					315
Pro	Leu	Glu	His	Pro	Thr	Leu	Glu	Trp	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu
316				320					325					330
Arg	Trp	Tyr	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Ser	Asn	Met	Leu	Leu	Glu	Ile
331				335					340					345
Gly	Gly	Leu	Glu	Phe	Ser	Ala	Ala	Pro	Phe	Ser	Gly	Trp	Tyr	Met
346				350					355					360

Ser	Thr	Glu	Ile	Gly	Thr	Arg	Asn	Leu	Cys	Asp	Pro	His	Arg	Tyr
361				365					370					375
Asn	Ile	Leu	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Cys	Met	Asp	Leu	Asp	Thr	Arg
376				380					385					390
Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Ala	Ala	Val	Glu	Ile	Asn
391				395					400					405
Leu	Ala	Val	Leu	His	Ser	Phe	Gln	Leu	Ala	Lys	Val	Thr	Ile	Val
406				410					415					420
Asp	His	His	Ala	Ala	Thr	Val	Ser	Phe	Met	Lys	His	Leu	Asp	Asn
421				425					430					435
Glu	Gln	Lys	Ala	Arg	Gly	Gly	Cys	Pro	Ala	Asp	Trp	Ala	Trp	Ile
436				440					445					450
Val	Pro	Pro	Ile	Ser	GLy	Ser	Leu	Thr	Pro	Val	Phe	His	Gln	Glu
451				455					460					465
Met	Val	Asn	Tyr	Ile	Leu	Ser	Pro	Ala	Phe	Arg	Tyr	Gln	Pro	Asp
466				470					475					480
Pro	Trp	Lys	GLy	Ser	Ala	Thr	Lys	Gly	Ala	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys
481				485					490					495
Lys	Thr	Phe	Lys	Glu	Val	Ala	Asn	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Ala	Ser
496				500					505					510
Leu	Met	Gly	Thr	Leu	Met	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Ala	Thr	Ile	Leu
511				515					510					525
Tyr	Ala	Ser	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Gln	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu
526				530					535					540
Gly	Arg	Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Phe	Asp	Pro	Arg	Val	Leu	Cys	Met
541				545					550					555
Asp	Glu	Tyr	Asp	Val	Val	Ser	Leu	Glu	His	Glu	Ala	Leu	Val	Leu
556				560					565					570
Val	Val	Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn	Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly
571				575					580					585
Glu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn
586				590					595					600
Ser	Ser	Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe
601				605					610					615
Asn	Ser	Val	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Arg	Arg
616				620					625					630
Lys	Arg	Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Leu	Gly
631				635					640					645
Thr	Leu	Arg	Phe	Cys	Val	Phe	Gly	Leu	Gly	Ser	Arg	Ala	Tyr	Pro
646				650					655					660
His	Phe	Cys	Ala	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Asp	Thr	Arg	Leu	Glu	Glu
661				665					670					675
Leu	Gly	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gly	Asp	Glu	Leu
676				680					685					690
Cys	Gly	Gln	Glu	Glu	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Lys	Ala	Ala	Phe
691				695					700					705
Gln	Ala	Ser	Cys	Glu	Thr	Phe	Cys	Val	Gly	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala

706		710		715		720								
Ala	Ala	Gln	Asp	Ile	Phe	Ser	Pro	Lys	Arg	Ser	Trp	Lys	Arg	Gln
721		725		730		735								
Arg	Tyr	Arg	Leu	Ser	Thr	Gln	Ala	Glu	Gly	Leu	Gln	Leu	Leu	Pro
736		740		745		750								
Gly	Leu	Ile	His	Val	His	Arg	Arg	Lys	Met	Phe	Gln	Ala	Thr	Val
751		755		760		765								
Leu	Ser	Val	Glu	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr
766		770		775		780								
Ile	Leu	Val	Arg	Leu	Asp	Thr	Ala	Gly	Gln	Glu	Gly	Leu	Gln	Tyr
781		785		790		795								
Gln	Pro	Gly	Asp	His	Ile	Gly	Ile	Cys	Pro	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly
796		800		805		810								
Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg	Val	Glu	Asp	Pro	Pro	Pro	Pro
811		815		820		825								
Thr	Glu	Ser	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Ser	Pro	Gly
826		830		835		840								
Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Pro	Cys
841		845		850		855								
Thr	Leu	Arg	Gln	Ala	Leu	Thr	Phe	Phe	Leu	Asp	Ile	Thr	Ser	Pro
856		860		865		870								
Pro	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	Ala	Glu	Glu
871		875		880		885								
Pro	Ser	Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg
886		890		895		900								
Arg	Tyr	Glu	Glu	Trp	Lys	Trp	Phe	Arg	Cys	Pro	Thr	Leu	Leu	Glu
901		905		910		915								
Val	Leu	Glu	Gln	Phe	Pro	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu
916		920		925		930								
Leu	Thr	Gln	Leu	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser
931		935		940		945								
Ser	Ala	Pro	Asn	Ala	His	Pro	Gly	Glu	Val	His	Leu	Thr	Val	Ala
946		950		955		960								
Val	Leu	Ala	Tyr	Arg	Thr	Gln	Asp	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Tyr
961		965		970		975								
Gly	Val	Cys	Ser	Thr	Trp	Leu	Ser	Gln	Leu	Lys	Thr	Gly	Asp	Pro
976		980		985		990								
Val	Pro	Cys	Phe	Ile	Arg	Gly	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Leu	Pro	Pro
991		995		1000		1005								
Asp	Pro	Tyr	Val	Pro	Cys	Ile	Leu	Val	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Ile
1006		1010		1015		1020								
Ala	Pro	Phe	Arg	Gly	Phe	Trp	Gln	Glu	Arg	Leu	His	Asp	Ile	Glu
1021		1025		1030		1035								
Ser	Lys	Gly	Leu	Gln	Pro	Ala	Pro	Met	Thr	Leu	Val	Phe	Gly	Cys
1036		1040		1045		1050								
Arg	Cys	Ser	Gln	Leu	Asp	His	Leu	Tyr	Arg	Asp	Glu	Val	Gln	Asp
1051		1055		1060		1065								

Ala	Gln	Glu	Arg	Gly	Val	Phe	Gly	Arg	Val	Leu	Thr	Ala	Phe	Ser
1066				1070					1075					1080
Arg	Glu	Pro	Asp	Ser	Pro	Lys	Thr	Tyr	Val	Gln	Asp	Ile	Leu	Arg
1081				1085					1090					1095
Thr	Glu	Leu	Ala	Ala	Glu	Val	His	Arg	Val	Leu	Cys	Leu	Glu	Arg
1096				1100					1105					1110
Gly	His	Met	Phe	Val	Cys	Gly	Asp	Val	Thr	Met	Ala	Thr	Ser	Val
1111				1115					1120					1125
Leu	Gln	Thr	Val	Gln	Arg	Ile	Leu	Ala	Thr	Glu	Gly	Asp	Met	Glu
1126				1130					1135					1140
Leu	Asp	Glu	Ala	Gly	Asp	Val	Ile	Gly	Val	Leu	Arg	Asp	Gln	Gln
1141				1145					1150					1155
Arg	Tyr	His	Glu	Asp	Ile	Phe	Gly	Leu	Thr	Leu	Arg	Thr	Gln	Glu
1156				1160					1165					1170
Val	Thr	Ser	Arg	Ile	Arg	Thr	Gln	Ser	Phe	Ser	Leu	Gln	Glu	Arg
1171				1175					1180					1185
His	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Pro	Trp	Ala	Phe	Asp	Pro	Pro	Gly	Pro
1186				1190					1195					1200
Asp	Thr	Pro	Gly	Pro										
1201				1205										

Polikloniniai antikūnai prieš NO sintazę gali būti gaunami naudojant visą žmogaus NO sintazės molekulę, kurios seka yra tokia:

SEQ ID NO:2

Met	Gly	Asn	Leu	Lys	Ser	Val	Ala	Gln	Glu	Pro	Gly	Pro	Pro	Cys
1				5						10				15
Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Gly	Lys	Gln	Gly
16				20						25				30
Pro	Ala	Thr	Pro	Ala	Pro	Glu	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Ser	Leu
31				35						40				45
Leu	Pro	Pro	Ala	Pro	Glu	His	Ser	Pro	Pro	Ser	Ser	Pro	Leu	Thr
46				50						55				60
Gln	Pro	Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn	Trp	Glu
61				65						70				75
Val	Gly	Ser	Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Ser	Ala	Gln	Ala	Gln	Gln
76				80						85				90

Asp	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Arg	Arg	Cys	Leu	Gly	Ser	Leu	Val	Phe
91				95					100					105
Pro	Arg	Lys	Leu	Gln	Gly	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	Ala	Pro
106				110					115					120
Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln	Tyr	Tyr
121				125					130					135
Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	Gly	Ser	Gln	Ala	His	Glu	Gln	Arg	Leu
136				140					145					150
Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Tyr	Gln	Leu
151				155					160					165
Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala	Lys	Gln	Ala	Trp	Arg	Asn
166				170					175					180
Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys	Leu	Gln	Val
181				185					190					195
Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Arg	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe	Thr	Tyr
196				200					205					210
Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn	Leu	Arg
211				215					220					225
Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Cys	Pro	Gly	Arg	Gly	Asp
226				230					235					240
Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly	Tyr	Arg
241				245					250					255
Gln	Gln	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val	Glu	Ile
256				260					265					270
Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Arg

271	275	280	285
Phe Asp Val Leu Pro Leu Leu Leu Gln Ala Pro Asp Glu Pro Pro			
286	290	295	300
Glu Leu Phe Leu Leu Pro Pro Glu Leu Val Leu Glu Val Pro Leu			
301	305	310	315
Glu His Pro Thr Leu Glu Trp Phe Ala Ala Leu Gly Leu Arg Trp			
316	320	325	330
Tyr Ala Leu Pro Ala Val Ser Asn Met Leu Leu Glu Ile Gly Gly			
331	335	340	345
Leu Glu Phe Pro Ala Ala Pro Phe Ser Gly Trp Tyr Met Ser Thr			
346	350	355	360
Glu Ile Gly Thr Arg Asn Leu Cys Asp Pro His Arg Tyr Asn Ile			
361	365	370	375
Leu Glu Asp Val Ala Val Cys Met Asp Leu Asp Thr Arg Thr Thr			
376	380	385	390
Ser Ser Leu Trp Lys Asp Lys Ala Ala Val Glu Ile Asn Val Ala			
391	395	400	405
Val Leu His Ser Tyr Gln Leu Ala Lys Val Thr Ile Val Asp His			
406	410	415	420
His Ala Ala Thr Ala Ser Phe Met Lys His Leu Glu Asn Glu Gln			
421	425	430	435
Lys Ala Arg Gly Gly Cys Pro Ala Asp Trp Ala Trp Ile Val Pro			
436	440	445	450
Pro Ile Ser GLys er Leu Thr Pro Val Phe His Gln Glu Met Val			
451	455	460	465

Asn	Tyr	Phe	Leu	Ser	Pro	Ala	Phe	Arg	Tyr	Gln	Pro	Asp	Pro	Trp
466				470					475					480
Lys	Gly	Ser	Ala	Ala	Lys	Gly	Thr	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Lys	Thr
481				485					490					495
Phe	Lys	Glu	Val	Ala	Asn	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Ala	Ser	Leu	Met
496				500					505					510
Gly	Thr	Val	Met	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Gly
511				515					510					525
Ser	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Gln	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Arg
526				530					535					540
Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Phe	Asp	Pro	Arg	Val	Leu	Cys	Met	Asp	Glu
541				545					550					555
Tyr	Asp	Val	Val	Ser	Leu	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Val	Leu	Val	Val
556				560					565					570
Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn	Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Glu	Ser
571				575					580					585
Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Ser	Ser
586				590					595					600
Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe	Asn	Ser
601				605					610					615
Ile	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Arg	Arg	Lys	Arg
616				620					625					630
Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Leu	Gly	Thr	Leu
631				635					640					645
Arg	Phe	Cys	Val	Phe	Gly	Leu	GLys	er	Arg	Ala	Tyr	Pro	His	Phe

646	650	655	660
Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg Leu Glu Glu Leu Gly			
661	665	670	675
Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp Glu Leu Cys Gly			
676	680	685	690
Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Gln Ala Ala Phe Gln Ala			
691	695	700	705
Ala Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Asp Ala Lys Ala Ala Ala			
706	710	715	720
Arg Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg Tyr			
721	725	730	735
Arg Leu Ser Ala Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu			
736	740	745	750
Ile His Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Ile Arg Ser			
751	755	760	765
Val Glu Asn Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu			
766	770	775	780
Val Arg Leu Asp Thr Gly Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro			
781	785	790	795
Gly Asp His Ile Gly Val Cys Pro Pro Asn Arg Pro Gly Leu Val			
796	800	805	810
Glu Ala Leu Leu Ser Arg Val Glu Asp Pro Pro Ala Pro Thr Glu			
811	815	820	825
Pro Val Ala Val Glu Gln Leu Glu Lys Gly Ser Pro Gly Gly Pro			
826	830	835	840

Pro	Pro	Gly	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Pro	Cys	Thr	Leu
841				845					850					855
Arg	Gln	Ala	Leu	Thr	Phe	Phe	Leu	Asp	Ile	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
856				860					865					870
Pro	Gln	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Arg
871				875					880					885
Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Asp	Pro	Arg	Arg	Tyr
886				890					895					900
Glu	Glu	Trp	Lys	Trp	Phe	Arg	Cys	Pro	Thr	Leu	Leu	Glu	Val	Leu
901				905					910					915
Glu	Gln	Phe	Pro	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr
916				920					925					930
Gln	Leu	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser	Ser	Ala
931				935					940					945
Pro	Ser	Thr	His	Pro	Gly	Glu	Ile	His	Leu	Thr	Val	Ala	Val	Leu
946				950					955					960
Ala	Tyr	Arg	Thr	Gln	Asp	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Tyr	Gly	Val
961				965					970					975
Cys	Ser	Thr	Trp	Leu	Ser	Gln	Leu	Lys	Pro	Gly	Asp	Pro	Val	Pro
976				980					985					990
Cys	Phe	Ile	Arg	Gly	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Pro
991				995					1000					1005
Ser	Leu	Pro	Cys	Ile	Leu	Val	Gly	Pro	Gly	Thr	Gly	Ile	Ala	Pro
1006				1010					1015					1020
Phe	Arg	Gly	Phe	Trp	Gln	Glu	Arg	Leu	His	Asp	Ile	Glu	Ser	Lys

1021	1025	1030	1035
Gly Leu Gln Pro Thr	Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys		
1036	1040	1045	1050
Ser Gln Leu Asp His Leu Tyr Arg Asp Glu Val Gln Asn Ala Gln			
1051	1055	1060	1065
Gln Arg Gly Val Phe Gly Arg Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu			
1066	1070	1075	1080
Pro Asp Asn Pro Lys Thr Tyr Val Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu			
1081	1085	1090	1095
Leu Ala Ala Glu Val His Arg Val Leu Cys Leu Glu Arg Gly His			
1096	1100	1105	1110
Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr Met Ala Thr Asn Val Leu Gln			
1111	1115	1120	1125
Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu Gly Asp Met Glu Leu Asp			
1126	1130	1135	1140
Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg Asp Gln Gln Arg Tyr			
1141	1145	1150	1155
His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu Val Thr			
1156	1160	1165	1170
Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg Gln Leu			
1171	1175	1180	1185
Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Ser Asp Thr			
1186	1190	1195	1200
Asn Ser Pro			
1201	1203		

Norint gauti polikloninius antikūnus prieš NO sintazę, taip pat galima naudoti NO sintazės fragmentą, pasirinktą iš tokių sekų:

SEQ ID NO: 3

Pro Trp Ala Phe

1192 1195

SEO ID NO: 4

Gly Ala Val Pro

1189 1192

SEQ ID NO: 5

[illegible]

SEQ ID NO: 6

```

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
11941195                               1200
Asp Thr Pro Gly Pro
1201                               1205

```

SEQ ID NO: 7

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp
1186 1190 11951196

SEQ ID NO: 8

```

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
1186                1190                1195                1200
Asp Thr Pro Gly Pro
1201                1205

```

Pradinių polikloninių antikūnų prieš NO sintazę paruošimo pavyzdinė metodika gali būti tokia kaip aprašyta žemiau. Norint padidinti polikloninių antikūnų kiekį triušių kraujyje, padaromos 1-3 norimo antigeno intraveninės injekcijos ir po 7-9 dienų paimamas kraujas. Po imunizacijos imami kraujo mėginiai antikūno kiekiui nustatyti. Paprastai tirpaus antigeno maksimalus imuninės reakcijos lygis yra pasiekiamas po 40-60 dienų nuo pirmosios antigeno

injekcijos. Pasibaigus pirmam imunizacijos ciklui, triušiams duodamas 30 dienų reabilitacijos laikotarpis, po to pakartotinai imunizuojama kitomis 1-3 intraveninėmis injekcijomis.

Norimus antikūnus turinčiam serumui gauti, paimamas imunizuotų triušių kraujas ir supilamas į 50 ml talpos centrifuginį mėgintuvėlį. Medine mentele nuimami ant mėgintuvėlio sienelių susidarę produkto gumulėliai ir į gumulą mėgintuvėlio centre įstatoma lazdelė. Tada kraujas padedamas į šaldytuvą nakčiai ir laikomas maždaug 40 °C temperatūroje. Kitą dieną išimamas ant mentelės esantis gumulas ir likęs skystis centrifuguojamas 10 min esant 13000 apsisukimų per minutę. Skystas nuopilas yra reikiamas antiserumas. Gautasis antiserumas paprastai yra geltonos spalvos. Į antiserumą pridedama 20% NaN_3 (koncentracija pagal masę), kad galutinė koncentracija būtų 0,02% ir laikomas užšaldytas -20 °C temperatūroje arba be NaN_3 - -70 °C temperatūroje. Norint atskirti reikiamus antikūnus nuo gama interferono iš antiserumo, tinka toliau aprašyta kietafazinės absorbcijos seka:

10 ml triušių antiserumo praskiedžiama du kartus su 0,15 M NaCl, po to pridedama 6,26 g Na_2SO_4 , sumaišoma ir inkubuojama 12-16 valandų 4 °C temperatūroje. Nuosėdos nucentrifuguojamos, praskiedžiama 10 ml fosfatinio buferio ir dializuojama prieš tą patį buferį per naktį kambario temperatūroje. Pašalinus nuosėdas, tirpalas supilamas į DEAE-celiuliozės kolonėlę, subalansuotą pagal fosfatinį buferį. Antikūno frakcija nustatoma matuojant eliuato optinį tankį esant 280 nm bangos ilgiui.

Išskirti negryninti antikūnai gryninamai naudojant giminingumo chromatografijos metodą, prijungiant gautus antikūnus prieš NO sintazę, eančią ant netirpios chromatogarinės terpės matricos, o po to eliuuojant koncentruotais vandeniniais druskų tirpalais.

Gautas buferinis tirpalas yra naudojamas kaip pradinis tirpalas homeopatinio skiedimo procese, naudojamame antikūno aktyvuotai-potencijuotai formai paruošti. Tinkamiausia antigenų išgrynintų polikloninių triušio antikūnų prieš NO sintazę pradinio matricinio tirpalo koncentracija yra nuo 0,5 iki 5,0 mg/ml, geriau nuo 2,0 iki 3,0 mg/ml.

Polikloniniai antikūnai prieš endogeninę biologinę molekulę taip pat gali būti gauti pagal metodologiją, panašią į metodologiją, aprašytą endotelinės NO sintazės antikūnams gauti, naudojant adjuvantą.

Gautas buferinis tirpalas yra naudojamas kaip pradinis tirpalas homeopatinio praskiedimo procese, naudojamame antikūnų aktyvuotai-potencijuotai formai paruošti.

Kiekvieno darinio komponento aktyvuota-potencijuota forma gali būti pagaminama iš pradinio tirpalo panaudojant homeopatinę potenciaciją, geriausia naudojant proporcinį koncentracijos mažinimo metodą, darant kiekvieno pirmiau pagaminto tirpalo (pradedant nuo pradinio tirpalo) 1 dalies serijinius praskiedimus 9 dalimis (10-kartinis praskiedimas) arba 99 dalimis (100-kartinis praskiedimas) arba 999 dalimis (1000-kartinis praskiedimas) neutralaus tirpiklio, pradedant nuo pradinio antikūno tirpalo tirpiklyje (geriausia vandenyje arba vandens-etilo alkoholio mišinyje), kur antikūno koncentracija yra nuo maždaug 0,5 iki maždaug 5,0 mg/ml, susietą su išoriniu poveikiu. Geriausia, kai išorinis poveikis yra daugkartinis kiekvieno praskiedimo vertikalus purtymas (dinamizacija). Geriau, kad kiekvienam kitam praskiedimui būtų naudojami atskiri konteineriai iki reikalaujamo pajėgumo lygio arba praskiedimo koeficiento. Šis būdas yra gerai žinomas homeopatijos srityje. Žr., pvz. W. Schwabe „*Homeopathic medicines*“, M., 1967, p.14-29, kuris čia duodamas kaip literatūros šaltinis minėtam tikslui.

Pavydžiui, norint pagaminti 12-kartinį praskiedimą (pažymėtą C12) viena pradinio matricinio antikūnų prieš NO sintazę tirpalo, kurio koncentracija yra 3,0 mg/ml, dalis yra praskiedžiama 99 dalimis neutralaus vandeninio arba vandeninio-alkoholinio tirpiklio (geriausia 15% etilo alkoholio) ir vertikaliai purtoma daug kartų (10 ir daugiau), gaunant 1-ąjį 100-kartinį praskiedimą (pažymėtą C1). Antras 100-kartinis praskiedimas (C2) yra pagaminamas iš 1-ojo 100-kartinio praskiedimo C1. Ši procedūra kartojama 11 kartų, gaunant 12-ąjį 100-kartinį praskiedimą C12. Taigi 12-tasis 100-kartinis praskiedimas reiškia tirpalą, gautą panaudojant 12 serijinių praskiedimų 1 dalies pradinio matricinio antikūnų tirpalo, kuriame antikūnų koncentracija yra 3,0 mg/ml 99 dalimis neutralaus tirpiklio skirtinguose konteineriuose, kuris yra ekvivalentiškas 100-kartiniam homeopatiniam praskiedimui C12. Panašios procedūros naudojant atitinkamą praskiedimo koeficientą yra atliekamos norimams praskiedimams gauti. Tarpiniai praskiedimai gali būti naudojami aktyvumo pagal norimą biologinį modelį tyrimams. Tinkamiausios aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnams, įeinantiems į šio išradimo derinį, yra kiekvienos aktyvuotos-potencijuotos formos praskiedimai C12, C30 ir C200. Naudojant veikliosios medžiagos kaip biologiškai aktyvaus skysto komponento įvairių homeopatinių praskiedimų (pirmiausia 100-kartinių) mišinį, kiekvienas kompozicijos komponentas (pvz. C12, C30, C50, C200) yra pagaminamas atskirai pagal aukščiau aprašytą metodiką, kol gaunamas priešpaskutinis praskiedimas (pvz.,

atitinkamai iki C11, C29 ir C199) ir tada viena kiekvieno komponento dalis yra įdedama į vieną konteinerį pagal mišinio kompoziciją ir sumaišoma su reikiamu kiekiu tirpiklio (pvz. su 97 dalimis 100-kartinio praskiedimo).

Galima naudoti veikliąją medžiagą kaip įvairių homeopatinių praskiedimų mišinį, pvz., dešimtainių ir (arba) šimtakartinių (D20, C30, C100 arba C12, C30, C50 arba C12, C30, C200 ir t.t.), kurių veiksmingumas yra nustatytas eksperimentiškai, tiriant šį praskiedimą pagal tinkamą biologinį modelį, pavyzdžiui, pagal čia pateikiamuose pavyzdžiuose aprašytus modelius.

Potenciacijos ir koncentracijos mažėjimo eigoje vertikalus purtymas gali būti keičiamas išoriniu poveikiu ultragarsu, elektromagnetiniu lauku arba panašia homeopatijos srityje priimta išorinio poveikio priemone.

Šio išradimo farmacinės kompozicijos kieta dozuota forma gali būti pagaminama naudojant kieto, farmaciškai priimtino nešiklio impregnavimą veikliųjų komponentų, kurie yra sumaišyti, geriausia santykiu 1:1, ir naudojami skystoje dozuotoje formoje, aktyvuotos-potencijuotos formos vandeninių arba vandeninių-alkoholinių tirpalų mišiniu. Kitu atveju, nešiklis gali būti impregnuojamas kiekvienu vienas po kito einančiu reikalingu praskiedimu.

Pageidautina kietos dozuotos formos farmacinės kompozicijas gaminti iš farmaciškai priimtino nešiklio granulių, kurios prieš tai buvo prisotintos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnų vandeninis arba vandeniniais praskiedimais. Kieta dozuota forma gali būti bet kokios farmacijoje žinomos formos, įskaitant tabletes, kapsules, piliulę ir kitas. Neaktyviais farmaciniais ingredientais galima naudoti gliukozę, sacharozę, maltozę, amilumą, izomaltozę, izomaltą ir kitus mono-, oligo- ir polisacharidus, naudojamus vaistų gamyboje, o taip pat ir aukščiau minėtų neaktyvių farmacinių ingredientų technologinius mišinius su kitomis farmaciškai priimtinomis pagalbinėmis medžiagomis, pavyzdžiui, izomaltu, krospovidonu, natrio ciklamatu, natrio sacharinu, bevandene citrinų rūgštimi ir t.t., įskaitant tepalus, dezintegrantus, rišiklius ir nuspalvinančius agentus. Tinkamiausi nešikliai yra laktozė ir izomaltas. Į farmacinę dozuotą formą taip pat gali įeiti standartinės farmacinės pagalbinės medžiagos, pavyzdžiui, mikrokristalinė celiuliozė, magnio stearatas ir citrinų rūgštis.

Žemiau duodamas kietos dozuotos formos pagaminimo pavyzdys. Norint pagaminti kietą peroralinę formą, 100-300 µm dydžio laktozės granulės impregnuojamos antikūnų prieš histaminą aktyvuotos-potencijuotos formos, antikūnų prieš NO sintazę aktyvuotos-

potencijuotos formos ir antikūnų prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotos-potencijuotos formos vandeniniais arba vandeniniais-alkoholiniais tirpalais santykiu 1 kg antikūno tirpalo su 5 arba 10 kg laktozės (nuo 1:5 iki 1:10). Impregnavimui gauti laktozės granulės laikomos iki išotinimo sususkystintame verdančiame sluoksnyje, verdančio sluoksniu agregate (pvz. "Hüttlin Pilotlab" by Hüttlin GmbH), po to džiovinamos pašildyto oro srove mažesnėje nei 40 °C temperatūroje. Nustatytas išdžiovintų granulių kiekis (nuo 10 iki 34 masės dalių), išotintų aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnais sudedamas į maišyklę ir sumaišomas su nuo 25 iki 45 masės dalių "neprisotintos" grynos laktozės (naudojamos kainos sumažinimui ir supaprastinimui bei technologinio proceso pagreitinimui nesumažinant gydymo efektyvumo) kartu su nuo 0,1 iki 1 masės dalies magnio stearato ir nuo 3 iki 10 masės dalių mikrokristalinės celiuliozės. Gauta tablečių masė vienodai išmaišoma ir tabletuojama tiesioginio sauso presavimo būdu (pvz. Korsch – XL 400 tabletavimo presu), suformuojant 100-500 mg apvalias piliules, geriausia 300 mg. Po tabletavimo gaunamos 300 mg piliulės, kurios yra išotintos aktyvuotos-potencijuotos formos antikūnų derinio vandeniniu-alkoholiniu tirpalu (3,0-6,0 mg/piliulėje). Kiekvienas nešikliui impregnuoti naudojamas derinio komponentas

yra 100-kartinių homeopatinių praskiedimų, geriausia C12, C30 ir C200, mišinio formos.

Nors išradimas ir nėra apribotas kokios nors konkrečios teorijos, manoma, kad čia aprašytos „aktyvuotos-potencijuotos“ formos antikūnai neturi tokio šio antikūno molekulinės formos kiekio, kad jo pakaktų biologiniam aktyvumui, kurį būtų galima priskirti tokiai formai. Šio išradimo vaistinio derinio (derinio farmacinė kompozicija) biologinis aktyvumas yra plačiai pademonstruotas pridedamais pavyzdžiais.

Pageidautina gydymo tikslams šio išradimo derinį vartoti nuo 1 iki 4 kartų per dieną, geriau 2 kartus per dieną, imant šio derinio vieną arba dvi vienetines dozuotas formas.

Toliau išradimas iliustruojamas pridedamais jo neapribojančiais pavyzdžiais.

PAVYZDŽIAI

1 pavyzdys

Kompleksinio preparato, turinčio išgrynintų gimingumo chromatografijos būdu triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 (anti-S100) ir prieš

endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) aktyvuotos-potencijuotos formos, gautos panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų), ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 deriniui (santykiu 1:1) (anti-S100+anti-eNOS ULD), o taip pat ir jo komponentų – išgrynintų gimingumo chromatografijos būdu polikloninių triušio antikūnų prieš smegenims būdingo baltymo S-100, išgryninto per antigeną, ultra-mažas dozes (ULD) (anti-S100) aktyvuotos-potencijuotos formos, gautos panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų), ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 deriniui, ir polikloninių triušio antikūnų prieš endotelinės NO-sintazės ultramažą dozę (anti-eNOS ULD) aktyvuotos-potencijuotos formos, gautos panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų), ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 deriniui, poveikio į standartinio ligando [^3H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu $\sigma 1$ receptoriumi tyrimai *in vitro* buvo vertinami panaudojant radioligandų metodą. Bandymo kontrolei buvo naudojamas potencijuotas distiliuotas vanduo (homeopatinių praskiedimų C12+C30+C200 mišinys).

Sigma-1 ($\sigma 1$) receptorių – intraląstelinis receptorių – yra lokalizuotas centrinės nervų sistemos ląstelėse, daugelio periferinių audinių ir imuninių komponentų ląstelėse. Receptoriai turi unikalią gebą translokuotis, kurią sukelia dauguma psichotropinių vaistų. Sigma-1 receptorių dinamika yra tiesiogiai susijusi su įvairiais poveikiais, kuriuos sukelia preparatai, veikiantys sigma-1 receptorių. Tokiais poveikiais yra aktyvumo kanalų reguliacija, ekocitozė, signalo perdavimas, plazmos membranos persitvarkymas (plaustų susidarymas) ir lipidų transportavimas/metabolizmas. Visa tai gali turėti įtakos į neuronų plastiškumą smegenyse. Yra duomenų, kad sigma-1 receptoriai turi moduliuojantį poveikį į daugumą neuromediatorinių sistemų: noradreninę, serotonerginę, dopaminerginę, cholinerginę sistemas ir NMDA-reguliuojamus glutamato poveikius. Sigma-1 receptoriai vaidina svarbų vaidmenį neurodegeneracinių ligų patofiziologijoje (pvz. Alzheimerio liga, Parkinsono liga), psichiniai ir emociniai sutrikimai ir apopleksija; ir taip pat mokymosi procesuose ir atmintyje. Šiuo požiūriu vaistų gebėjimas veikti ligandų su sigma-1 receptoriumi sąveiką rodo, kad jų farmakologinio aktyvumo spektre yra neuroapsauginis, anti-išeminis, anksiolitinis antidepresinis ir anti-asteninis komponentai, kas duoda pagrindo laikyti šiuos vaistus veiksmingais preparatais ypatingai smegenų kraujagyslių ligoms gydyti.

Tyrimo metu (bendro surišimo matavimas) į inkubavimo terpę įdedama 20 µl kompleksinio preparato anti-S100+anti-eNOS ULD arba 10 µl AB prieš S100 ULD arba 10 µl AB prieš NOS ULD. Tokiu būdu, įdėtas į tyrimo indelį anti-S100+anti-eNOS ULD kiekis, kai tiriamas kompleksinis preparatas, buvo toks pats kaip ir AB prieš S100 ULD ir AB prieš NOS ULD, kai tiriami kaip monopreparatai, kas leidžia palyginti preparato ir atskirų jo komponentų veiksmingumą. Į inkubavimo terpę pridedama 20 µl ir 10 µl potencijuoto vandens.

Po to pridedama 160 µl (maždaug 200 µg baltymo) Jurkat ląstelių linijos membranų homogenato (žmogaus leukeminių T-limfocitų linija) ir pabaigoje 20 µl tričiu žymėto radioligando [³H]pentazocino (15 nm).

Norint išmatuoti nespecifinį surišimą, į inkubavimo terpę vietoj preparatų arba potencijuoto vandens pridedama 20 µl nežymėto ligando haloperidolio (10 µM).

Po 120 minučių inkubacijos 22 °C temperatūroje 50 mM Tris-HCl buferyje (pH = 7,4) ir nufiltravus per stiklo pluošto filtrus (GF/B, Packard) matuojamas radioaktyvumas, naudojant scintilometrą (Topcount, Packard) ir scintiliacijos mišinį (Microscint 0, Packard). Specifinis surišimas (tyrimo metu arba kontrolė) apskaičiuojamas kaip skirtumas tarp bendro (tyrimo metu arba kontrolė) ir nespecifinio surišimo.

Rezultatai pateikti kaip specifinio surišimo inhibavimo, lyginant su kontrole, procentai (1 lentelė).

1 lentelė

Tyrimo grupė	Kiekis tyrimo indelyje	Radioligando specifinio surišimo %, lyginant su kontrole			Radioligando surišimo inhibicija %, lyginant su kontrole
		1 ^{as} tyrimas	2 ^{as} tyrimas	Vidurkis	
anti-S100 +anti-eNOS ULD	20 µl	48,4	35,5	42,0	58,0
anti-S100 ULD	10 µl	67,3	63,1	65,2	34,8
anti-eNOS	10 µl	147,5	161,1	154,3	-54,3

ULD					
Potencijuotas vanduo	20 µl	98,1	75,8	86,9	13,1
Potencijuotas vanduo	10 µl	140,1	106,2	123,2	-23,2

Preparatų ir potencijuoto vandens poveikis į standartinio ligando [³H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu σ1 receptoriumi

Pastaba: specifinis susirišimas % lyginant su kontrole = (bandyme gautas specifinis susirišimas/ kontrolinis specifinis susirišimas)* 100%;

specifinio susirišimo inhibicija % lyginant su kontrole = 100% - (bandyme gautas specifinis susirišimas/ kontrolinis specifinis susirišimas) * 100%).

Duomenys, rodantys didesnę nei 50% inhibiciją, simbolizuoja žymius tirtųjų junginių poveikius; inhibicija nuo 25% iki 50% patvirtina kad poveikis yra nuo silpno iki vidutinio; mažesnė nei 25% inhibicija rodo nežymų tiriamojo junginio poveikį ir yra fono lygio.

Tokiu būdu, šio tyrimo modelio sąlygos rodo, kad standartinio radioligando [³H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu σ1 receptoriumi kompleksinis preparatas anti-S100+anti-eNOS ULD inhibuoja stipriau nei jo atskiri komponentai (anti-S100 ULD ir anti-eNOS ULD); pridėtas į tyrimo indą anti-S100 ULD (būtent 10 µl), inhibuoja standartinio radioligando [³H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu σ1 receptoriumi, bet poveikio dydis yra mažesnis nei kompleksinio preparato anti-S100+anti-eNOS ULD; pridėtas į tyrimo indą anti-eNOS ULD (būtent 10 µl), neturi poveikio į standartinio radioligando [³H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu σ1 receptoriumi; potencijuotas vanduo, pridėtas į tyrimo indą (būtent 10 µl arba 20 µl) neturi poveikio į standartinio radioligando [³H]pentazocino susirišimą su žmogaus rekombinantiniu σ1 receptoriumi.

2 pavyzdys

Alzheimerio liga (AD) yra neurodegeneracinė liga, kuriai būdingas kognityvinių funkcijų sumažėjimas, atminties pablogėjimas, sąmonės sutrikimas ir emociniai pokyčiai. Nors šiuo metu laikoma, kad šios patologijos pagrindinė priežastis yra beta-amiloido susikaupimas, kuris sukelia beta-amiloidinių plokštelių susidarymą ir neurofibrilių raizginius smegenų audiniuose, AD taip pat lydi ir cholinerginės sistemos nepakankamumas. Tai yra

pagrindas bendriausiu būdu modeliuoti AD gyvūnuose cholinerginės sistemos antagonistų skopolamino pagalba. Skopolamino injekcijos eksperimentiniams gyvūnams (paprastai žiurkėms arba pelėms) sutrukdo gebėjimą mokytis ir priveda prie atminties pablogėjimo.

Žiurkių ir pelių kognityvinėms funkcijoms įvertinti buvo naudojami įvairūs metodai, įskaitant Morris vandens labirintą. Šio tyrimo esmė yra tai, kad gyvūnai paleidžiami į kntainerį su drumstu vandeniu iš įvairių taškų ir yra priversti ieškoti paslėptos fiksuotos platformos. Šio metodo privalumas yra tas, kad jis leidžia tyrėjui kontroliuoti gyvūno mokymosi procesą (susidarymą nuovokos apie erdvinę platformos padėtį nepriklausomai nuo to, kur gyvūnas buvo įleistas į vandenį) taip, kad būtų galima įvertinti atminties stiprumą (tam tikslui bandymas vykdomas išėjus platformą).

Buvo tiriamas šio išradimo derinio farmacinės kompozicijos, turinčios išgryninto gimingumo chromatografijos būdu triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 (anti-S100) ir endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) ULD aktyvuotos-potencijuotos formos, gautos panaudojant šaldiklyje laikyto pradinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų), ekvivalentišką 100-kartiniams homeopatiniais praskiedimams C12, C30, C200, (anti-S100+anti-eNOS ULD), efektyvumas bandyme su žiurkėmis, turinčiomis skopolamino sukeltą amneziją.

Vaisto anti-S100 + anti-eNOS ULD efektyvumo bandyme su žiurkėmis, turinčiomis skopolamino sukeltą amneziją (Alzheimerio ligos modelis) buvo panaudoti Rj:Wistar (Han) linijos 48 žiurkių patinėliai (180-280 g svorio). Keturias dienas žiurkėms po oda buvo leidžiamas normalus fiziologinis tirpalas ($n = 12$, sveikos) arba skopolaminas, kurio dozė buvo 0,5 mg/kg ($n = 36$) (skopolamino sukelta amnezija). Žiurkės su skopolamino sukelta amnezija buvo padalintos į tris grupes ir į skrandį leidžiamas distiliuotas vanduo (7,5 ml/kg, $n = 12$, kontrolinė grupė 1) arba anti-S-100 ULD (7,5 ml/kg, $n = 12$, grupė 2) arba anti-S-100 ULD + anti-eNOS ULD (7,5 ml/kg, $n = 12$, grupė 3) 9 dienas (4 dienas prieš leidžiant skopolaminą, 4 dienas prieš skopolamino foną ir 1 dieną po paskutinės skopolamino injekcijos).

Treniruotė Morris vandens labirinte buvo vykdoma keturių skopolamino leidimo dienų laikotarpyje 60 minučių po tiriamųjų vaistų suleidimo ir 30 minučių po skopolamino suleidimo (4 nuoseklūs testai 60 sekundžių intervalais). Morris labirintas yra apvalus rezervuaras (150 cm skersmens, 45 cm aukščio) iki 30 cm pripiltas vandens (26-28 °C). 18

cm atstumu nuo konteinerio krašto paslėpta platforma (15 cm skersmens) 1,5 cm gylyje žemiau vandens lygio. Drumstas vanduo padaromas pridodant netoksiško dažo (pvz., pieno miltelių), ir platforma tampa nematoma. Kiekviename bandyme gyvūnas paleidžiamas labirinte viename iš pradinių taškų, esančių vienodu atstumu nuo paslėptos platformos ir gyvūnui leidžiama ieškoti platformos. Jeigu gyvūnas negali rasti platformos per 120 sekundžių, gyvūnas uždedamas ant platformos, palaikomas 60 sekundžių ir vėl pradedamas bandymas. Per keturis bandymus atsitiktine tvarka gyvūnams leidžiama pereiti per labirintą du kartus iš kiekvieno pradinio taško. Bandymai buvo užrašomi vaizdajuostėje, po to analizuojami nustatant atstumą, nueitą ieškant platformos kiekviename tyrime, ir latentinį ieškojimo laikotarpį ieškant platformos. Penktą dieną buvo atliktas toks tyrimas: iš labirinto išimama platforma ir žiurkėms leidžiama laisvai plūduriuoti 60 sekundžių. Registruojamas laikas, praleistas toje vietoje, kur būdavo platforma.

Skopolamino suleidimas žymiai pablogino gyvūnų gebėjimą mokytis. Kontrolinėje grupėje žymiai pailgėjo laikas, kurį praleido gyvūnai ieškodami platformos, o atstumas, kurį gyvūnai nuplaukė ieškodami platformos, žymiai padidėjo (2, 3 lentelės). Tyrimas rodo, kad kontrolinės grupės gyvūnų atmintis pablogėjo; šios grupės gyvūnai praleido mažiau laiko toje vietoje, kur būdavo platforma, lyginant su sveikais gyvūnais (4 lentelė). Anti-S-100 ULD suleidimas nedavė tirtųjų parametrų pagerėjimo (2, 3, 4 lentelės). Anti-S-100 + anti-eNOS ULD suleidimas davė tam tikrą mokymosi pagerėjimą, kuris pasireiškė platformos ieškojimo latentinio laiko sutrumpėjimu (2 lentelė) ir atstumo sumažėjimu (3 lentelė) 4 treniruotės dienų laikotarpyje bei atminties pagerėjimu, kurį rodo laiko, praleisto toje vietoje, kur būdavo platforma, pailgėjimas (4 lentelė).

2 lentelė

Platformos ieškojimo latentinis laikas, sek

Grupė	Treniruotė			
	1 ^{ma} diena	2 ^{ra} diena	3 ^{cia} diena	4 ^{ta} diena
Sveikųjų, n=12	54,7±6,2	30,8±2,8	26,9±5,1	20,5±3,6
Kontrolė, n=12	100,1±6,8***	92,4±9,3***	81,4±10,7***	77,7±9,4***

anti-S100 ULD, n=12	106,8±7,0	99,3±7,8	95,6±9,0	80,4±11,1
anti-S100 + anti-eNOS ULD, n=12	94,4±7,2	90,7±8,2	78,3±8,6	60,1±10,2

*** - yra žymus skirumas nuo sveikųjų, $p<0,05$

3 lentelė

Atstumas įveiktas ieškant platformos, cm

Grupė	Treniruotė			
	1 ^{ma} diena	2 ^{ra} diena	3 ^{čia} diena	4 ^{ta} diena
Sveikųjų, n=12	1055,7±94,6	659,5±62,2	564,8±119,3	406,1±61,2
Kontrolė, n=12	2587,1±217,2***	2559,6±250,5***	2397,9±312,6	2366,1±293,8***
anti-S100 ULD, n=12	2797,2±208,9	2865,2±255,1	2857,0±300,8	2457,4±344,4
anti-S100+ anti-eNOS ULD, n=12	2434,3±222,8	2529,9±282,7	2344,2±283,0	1905,1±343,7

*** - yra žymus skirtumas nuo sveikųjų, $p<0,05$

4 lentelė

Laikas, praleistas toje vietoje, kurioje būdavo platforma, sek

Grupė	Tyrimas		
	0-30 sek.	30-60 sek.	0-60 sek.
Sveikųjų, n=12	40.8±4.1	36.8±3.6	38.5±2.6
Kontrolė, n=12	18.4±2.8***	18.8±1.9***	18.8±1.7***
anti-S100 ULD, n=12	13.3±2.1	21.5±2.6	17.6±1.3
anti-S100 + anti-eNOS ULD, n=12	19.1±4.8	23.8±2.2	21.2±2.5

*** - yra žymus skirtumas nuo sveikųjų, $p<0,05$

Tokiu būdu Alzheimerio ligos modelyje komplekso anti-S100 + anti-eNOS ULD suleidimas buvo veiksmingesnis nei anti-D-100 ULD ir tirpiklio suleidimas.

3 pavyzdys

Priešklinikiniai polikloninių išgrynintų gimingumo chromatografijos būdu triušio antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 (anti-S100) išgrynintą per antigeną ir prieš endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių (ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą (100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų), ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui (santykiu 1:1) (anti-S100+anti-eNOS ULD), tyrimai išeminio smūgio, sukulto žiurkėms panaudojant priekakčio smegenų žievės fototrombozę, tyrimai.

Ūmi smegenų kraujagyslių liga (insultas) išsivysčiusiose šalyse užima trečią vietą tarp mirties priežasčių ir yra viena iš pagrindinių žmonių neįgalumo priežasčių (*Gusev E.I., 2003; Janardhan V., Qureshi A.I., 2004*).

Fotoindukuotos trombozės modelis atitinka beveik visus eksperimentinio židininės smegenų išemijos modeliui keliamus reikalavimus. Šis Watsono (*Watson B. et al, 1985*) sukurtas modelis yra paremtas 560 nm bangos ilgio šviesos poveikiu į fotojautrų Bengalijos rožės pigmentą, įvestą į kraujotaką. Čia susidaro aktyvios deguonies formos, kurios sukelia endotelinių ląstelių ir trombocitų sulipimą ir krešulių, užkemšančių kraujagyslių spindį, susidarymą. Išeminio smegenų pažeidimo sukėlimo, panaudojant fotoindukuotą trombozę, metodas yra techniškai paprastas ir yra labai artimas klinikinėms smegenų išeminio priepuolio formoms. Didelis šio modelio privalumas yra tas, kad jis yra neinvazinis, t.y. nereikalauja kraniotomijos ir todėl tiksliau atgamina klinikinį cerebrinės trombozės vaizdą.

Anti-S-100+anti-eNOS ULD aktyvumui tirti bandyme su žiurkėmis, kurioms buvo sukeltas išeminis smūgis priekakčio smegenų žievės fototrombozės būdu, buvo paimti 37 Wistar žiurkių patinėliai (150-180 g svorio, 2-3 mėn amžiaus). Abipusis židininis išeminis priekakčio smegenų žievės pažeidimas žiurkėms buvo sukeltas panaudojant Watsono (*Watson B. et al., 1985*) fotocheminės trombozės metodą, modifikuotą I.V. Viktorovo (*Romanova G.A. et al, 1998*). Bengalijos rožės pigmentas (3% tirpalas) buvo suleistas anestezuotoms žiurkėms ($n = 37$) į jungo veną (anestezija: chloralio hidratas 300 mg/kg, į

pilva). Panaudojant šviesolaidžių pluoštą (3 cm skersmens) iš halogeninės lempos (24 V, 250 W) buvo nukreiptas šviesos spindulys į kaukolės paviršių virš kairiojo ir dešiniojo smegenų pusrutulių kaktinės žievės, kad būtų sukurta fototrombozė. Ta pati procedūra buvo atlikta su fiktyviai paveiktomis žiurkėmis ($n=6$), išskyrus tai, kad joms nebuvo suleistas Bengalijos rožės pigmentas ir nešviesta halogenine lempa. Sveikųjų grupėje buvo 6 žiurkės.

Žiurkėms su fototromboze 5 dienas prieš ir 9 dienas po priepuolio sukėlimo buvo skiriami tokie preparatai: distiliuotas vanduo (kontrolinė fototrombozė, 5 mg/kg per dieną, $n = 12$), S-100 ULD (5 mg/kg per dieną, $n = 7$) ir anti-S100+anti-eNOS ULD (5 mg/kg per dieną, $n = 6$). Aštuntą dieną po operacijos (arba fiktyvios operacijos) žiurkių gebėjimo mokytis ir atminties įvertinimui buvo atliekamas sąlyginio pasyvaus vengimo reflekso testas (CPAR). Žiurkės buvo patalpintos į įtaisą, susidedantį iš apšviestos vietos, sujungtos su tamsia kamera, kur gyvūnai gaudavo elektrinį 0,45 mA šoką per koją, del kurio paprastai tinkamesne vieta laikoma tamsioji kamera darėsi pavojingesnė. Sąlyginio pasyvaus vengimo reflekso atsiradimas buvo tiriamas sekančią dieną. Šiam tikslui žiurkės buvo patalpintos į apšviestą kamerą. Buvo registruojamas latentinis pirmojo įėjimo į tamsią kamerą laikotarpis. Jeigu žiurkė vengė tamsaus kambario ilgą laiką, buvo padaryta išvada, kad ji prisiminė pavojų (elektrinį šoką). Kuo ilgesnis įėjimo į tamsią kamerą latentinis laikotarpis, tuo geresnė atmintis.

Insulto apimtis buvo morfologiškai įvertinta daliai eksperimentinių grupių žiurkių devintą dieną.

Kontrolinių žiurkių atveju fototrombozė sukėlė didelį insulto plotą, kuris iššaukė atminties sutrikimą: CPAR reprodukcija pablogėjo 9,6% lyginant su sveikomis žiurkėmis ir 22,9% - lyginant su fiktyviai apdorotomis (5 lentelė). Anti-S-100 ULD įvedimas sumažino insulto tūrį 42,2% ir pagerino atmintį 14,0%, lyginant su kontroline fototrombozine grupe. Anti-S-100 + anti-eNOS ULD įvedimas buvo veiksmingesnis: insulto tūris sumažėjo 44,0%, o sąlyginio reflekso reprodukcija – 33,4%, lyginant su kontroline fototrombozine grupe.

Taigi kompleksinis anti-S-100+anti-eNOS ULD preparatas buvo veiksmingesnis nei monokomponentinis anti-S-100 ULD preparatas.

5 lentelė

	Židininio insulto tūris (mm ³); gyvūnų skaičius	CPAR latentinis laikotarpis (sekundės); gyvūnų skaičius
Sveiki gyvūnai	-	135,8 ± 28,8; n=6
Fiktyviai paveikti	-	159,3 ± 18,7; n=6
Fototrombozinė kontrolė	3,41 ± 0,5; n=9	122,8 ± 20,9; n=12
Fototrombozė + anti-S100 ULD	1,97 ± 0,6; n=4	140,0 ± 26,5; n=7
Fototrombozė + anti-S-100+anti-eNOS ULD	1,91 ± 0,5; n=4	163,8 ± 16,2; n=6

4 pavyzdys

Antikūnų prieš C-terminalinį angiotenzino II AT1-receptoriaus fragmentą aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskedimų C12, C30, C200 mišinyje derinio su antikūnais prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskedimų C12, C30, C200 mišinyje tyrimas panaudojant SRH žiurkių hipertenzijos modelį.

Buvo tirtas tirpalo formos antikūnų prieš C-terminalinį angiotenzino II AT1-receptoriaus fragmentą aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskedimų C12, C30, C200 mišinyje derinys su antikūnais prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskedimų C12, C30, C200 mišinyje, panaudojant SRH žiurkių hipertenzijos modelį. Tyrimai atlikti su 40 SHR linijos žiurkių patinėlių (350±50 g svorio, 4,5-5 mėnesių amžiaus), turinčių hipertenziją, kurie buvo padalinti į 4 grupes po 10 gyvūnų kiekvienoje.

28 dienas gyvūnai buvo gydyti tokiu būdu: 1 grupė – 2,5 mg/kg antikūnų prieš C-terminalinį žmogaus angiotenzino II AT-1 receptoriaus fragmentą aktyvuotos-potencijuotos formos (vandeninių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) derinyje su 2,5 ml/kg distiliuoto vandens, 2 grupė – 2,5 mg/kg antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotos-potencijuotos formos (vandeninių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) derinyje su 2,5 ml/kg distiliuoto

vandens, 3 grupė – 5 mg/kg derinio farmacinės kompozicijos (kievieno komponento vandeninių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) ir 4 grupė - 5 ml/kg distiliuoto vandens.

Nemiegančių žiurkių sistolinis kraujo spaudimas (SBP) buvo matuotas netiesioginiu metodu uodegos arterijoje (panaudojant apmovą) vieną kartą per savaitę praėjus 9 valandoms po paskutinio vaisto panaudojimo karto.

Visos tirtosios kompozicijos rodė hipotenzinį poveikį ($p < 0.05$): 28-tą dieną sistolinis kraujo spaudimas (SBP) sumažėjo, lyginant su pradine reikšme, 1-je grupėje – 20,6%, 2-je grupėje – 14,4%, 3-je grupėje – 27,6%. Kontrolinėje 4-je grupėje SDB pokyčiai buvo 1,6% lyginant su pradinėmis reikšmėmis. Rezultatai demonstruoja kombinuotos farmacinės kompozicijos aiškų sinerginį hipotenzinį poveikį.

5 pavyzdys

Antikūnų prieš C-terminalinį angiotenzino II AT1-receptoriaus fragmentą aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje derinio su antikūnais prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje eksperimentinis tyrimas, panaudojant NISAG žiurkių hipertenzijos modelį.

Buvo tirtas tirpalo formos antikūnų prieš C-terminalinį angiotenzino II AT1-receptoriaus fragmentą aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje derinys su antikūnais prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotų-potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje, panaudojant NISAG žiurkių hipertenzijos modelį. Tyrimai atlikti su 50 NISAG linijos žiurkių patinėlių (300 g svorio, 4 mėnesių amžiaus) turinčių paveldėjimo sąlygotą arterinę stresui jautrią hipertenziją, kurie buvo padalinti į 5 grupes po 10 gyvūnų kiekvienoje.

Gyvūnams peroraliniu būdu 28 dienas vieną kartą per dieną buvo duodami tokie vaistai: 1 grupė – 2,5 mg/kg antikūnų prieš C-terminalinį žmogaus angiotenzino II AT-1 receptoriaus fragmentą aktyvuotos-potencijuotos formos (vandeninių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) derinyje su 2,5 ml/kg distiliuoto vandens, 2 grupė – 2,5 mg/kg antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotos-potencijuotos formos (vandeninių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) derinyje su 2,5 ml/kg distiliuoto vandens, 3 grupė – 5 mg/kg derinio farmacinės kompozicijos (kievieno komponento homeopatinių vandeninių praskiedimų C12,

C30, C200 mišinys), 4 grupė – 5 ml/kg (10 ml/kg dozė) palyginamojo vaisto (losartano) ir 5 grupė - 5 ml/kg distiliuoto vandens.

Du karus per savaitę, praėjus nuo 2 iki 6 valandų po VSD antikūnų ir losartano sugirdymo, buvo matuojamas sistolinis kraujo spaudimas (SBP) netiesioginiu metodu uodegos arterijoje (panaudojant apmovą). 6 lentelėje parodyta NISAG linijos žiurkių sistolinio kraujo spaudimo pokyčių dinamika, išmatuota netiesioginiu metodu.

6 lentelė

Indikatorius	Pradinis SBP, mmHg	SBP po 28 vaisto vartojimo dienų, mmHg	Δ lyginant su pradine reikšme, mmHg	% nuo pradinės reikšmės
VSD antikūnai prieš žmogaus angiotenzino II receptoriaus C-terminalinį fragmentą	176	150	-26	-14,7%
VSD antikūnai prieš endotelinę NO-synthazę	175	164,5	-10,5	-6%
Vaistas-derinys VSD antikūnų prieš angiotenzino II receptoriaus C-galinį fragmentą ir endotelinę NO-sintazę pagrindu	179,5	140	-39,5	-22%
Losartanas	173,5	140,5	-33	-19%
Kontrolė (distiliuotas vanduo)	181	178	-3	-1,6%

6 pavyzdys

Antikūnų prieš insulininio receptoriaus β -subvieneto C-terminalinį fragmentą, išgrynintų per giminingumą su antigenu, ultramažų dozių, gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų (anti-IR ULD), antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę, išgrynintų per antigeną, ultramažų dozių, gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų (anti-eNOS ULD), bei antikūnų prieš insulininio receptoriaus β -subvieneto C-terminalinį fragmentą ultramažų dozių

ir antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę ultramažų dozių derinio (anti-IR ULD +anti-e-NOS ULD) poveikio eksperimentinis tyrimas.

Šiame tyrime buvo panaudota 150 Wistar žiukių patinėlių (svoris tyrimo pradžioje buvo 250-300g, 3,5-4 mėnesių amžiaus). 10 žiurkių buvo sveikos. Likusioms intraveniniu būdu buvo suleista 50 mg/kg streptozotocino dozė (eksperimentinis cukrinio diabeto modelis). Praėjus 72 valandoms po streptozotocino injekcijos, buvo atrinktos žiurkės, kurių gliukozės kiekis plazmoje ne mažesnis nei 12 mmol/l, padalintos į 7 grupes (po 20 žiurkių kiekvienoje grupėje), kurioms per 21 dieną buvo duodamas distiliuotas vanduo (5 ml/kg/per dieną, vieną kartą per dieną, į skrandį), insulinas® (8 vienetai/kg/per dieną, suleidžiant po oda), Rosiglitazonas® (8 mg/kg/per dieną, vieną kartą per dieną, į skrandį), anti-IR ULD (2,5 mg/kg/per dieną 5 ml/kg/per dieną tūryje, vieną kartą per dieną, į skrandį), anti-IR ULD + anti-eNOS ULD (5 ml/kg/per dieną, vieną kartą per dieną, į skrandį) ir taip pat Rosiglitazonas® ir insulinas® kartu, arba anti-IR ULD + anti-eNOS ULD ir insulinas® pagal režimus, atitinkančius kiekvieną preparatą (kaip aprašta aukščiau). Sveikos žiurkės gavo tą patį tūrį vandens. 7-tą, 14-tą ir 21-ą preparato suleidimo dienomis žiurkėms buvo matuojamas gliukozės kiekis kraujo plazmoje neėdus fermentiniu metodu (gliukozės oksidazės metodu) naudojant „gliukozės FKD“ rinkinius (Rusija).

Peroralinis gliukozės toleravimo testas (OGTT) buvo atliekamas 14-tą tyrimo dieną (14-tą preparato gavimo dieną) standartiniu metodu (Du Vigneaud and Karr, 1925). Žiurkėms 18 valandų buvo neduodama vandens. Šešiasdešimt minučių prieš tyrimą joms paskutinį kartą buvo duotos tiriamosios medžiagos. Sveikos žiurkės gavo tą patį tūrį vandens. Gliukozė buvo įvedama per gerklę 50% (pagal masę) vandeninio tirpalo pavidalu (1 g/kg žiurkės svorio). Gliukozės kiekis serume iš uodegos venos buvo matuotas naudojant „Gliukozės FKD“ rinkinį (OOO „Pharmaceutical and clinical diagnostics, Rusija, www.fkd.ru) po 0, 30, 60, 90, 120 min. Buvo skaičiuojami plotų po gliukozės koncentracijos kraujyje priklausomybės nuo laiko kreivės vidurkiai.

Streptozotocino injekcijos žymiai padidino gliukozės kiekį žiurkių kraujo plazmoje lyginant su sveikais gyvūnais (18 mmol/l lyginant su 3,5 mmol/l, $p < 0,05$). Anti-IR ULD grupėje 7, 14 ir 21 preparato suleidimo dienomis gliukozės kiekis vidutiniškai 22-28% buvo mažesnis nei kontrolinėje grupėje, tačiau skirtumai nepasiekė statistiškai patikimo lygio.

Anti-IR ULD ir anti-eNOS derinys buvo veiksmingesnis; gliukozės kiekio sumažėjimas 14-tą ir 21-ą eksperimento dieną buvo atitinkamai 47% ir 42% ($p < 0,05$ lyginant su kontrole). Etaloninis preparatas (Rosiglitazonas) taip pat sumažino gliukozės kiekį 14-tą ir 21-ą eksperimento dieną; poveikis pasiekė statistinį reikšmingumą tik 14-tą eksperimento dieną (36%, $p < 0,05$ lyginant su kontrole).

Insulinas, suleistas imant $\frac{1}{2}$ veiksmingos dozės (parinkta preliminariniame tyrime) efektyviau mažino gliukozės kiekį per visus stebėjimo laikotarpius (iki sveikųjų žiurkių kontrolės lygio) (Fig.1). Reikia atsižvelgti, kad tyrime buvo naudojamas trumpojo veikimo insulinas, o gliukozės kiekis plazmoje buvo matuojamas praėjus 1 valandai po injekcijos, kas taip pat veikė $\frac{1}{2}$ insulino dozės poveikį į gliukozės kiekį plazmoje. Jo fone nebuvo galima gerai nustatyti koks yra insulino ir rosiglitazono arba insulino ir anti-IR + anti-eNOS ULD bendro vartojimo poveikis.

Gliukozės tolerancijos sutrikdymas (gliukozės, kurią sunaudoja kūnas, sumažėjimas) yra vienas iš svarbiausių cukrinio diabeto diagnostinių ir gydymo rodiklių. Sveikųjų gyvūnų atveju peroraliniame gliukozės tolerancijos teste (14-tą preparatų leidimo dieną) kompleksinis preparatas anti-IR + anti-eNOS ULD ir insulinas veiksmingiau padidino gliukozės toleranciją, kai buvo suleidžiamas vienas. Rosiglitazonas taip pat sumažino plotą po gliukozės koncentracijos kraujyje priklausomybės nuo laiko kreivę (padidinta gliukozės tolerancija), tačiau jo veiksmingumas nebuvo statistiškai reikšmingas, lyginant su kontroline grupe (Fig.2).

7 pavyzdys

Antikūnų prieš insulininio receptoriaus β -subvieneto C-terminalinį fragmentą, išgrynintų per antigeną, ultramažų dozių, gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų (anti-IR ULD), antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę, išgrynintų per giminingumą su antigenu, ultramažų dozių, gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo hiperpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų (anti-eNOS ULD), bei antikūnų prieš insulininio receptoriaus β -subvieneto C-terminalinį fragmentą ultramažų dozių ir antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę ultramažų dozių derinio (anti-IR ULD + anti-eNOS ULD) poveikio eksperimentinis tyrimas.

Šiame tyrime buvo panaudoti 36 Goto-Kakizaki žiurkių patinėliai (svoris tyrimo pradžioje buvo 250-2800g, 10-12 savaičių amžiaus). Šios linijos žiurkės pasižymi nuo insulino nepriklausomo cukrinio diabeto savaiminiu atsiradimu. Gyvūnai buvo padalinti į 3 grupes (po 12 gyvūnų kiekvienoje grupėje) ir 28 dienas gavo arba distiliuotą vandenį (5 ml/kg, vieną kartą per dieną į skrandį) arba anti-IR ULD (2,5 mg/kg vieną kartą per dieną į skrandį) arba anti-IR ULD + anti-eNOS ULD (5 mg/kg vieną kartą per dieną į skrandį). Gliukozės kiekis kraujo plazmoje buvo matuotas gliukozės analizatoriumi (Beckman, Fullerton, Kalifornija, JAV) prieš pradėdant preparatų leidimą ir 4, 5, 12, 16, 20, 24, 28-tą preparato leidimo dieną. 28-tą dieną buvo atliktas gliukozės tolerancijos tyrimas (gliukozė, p.o., 1 g/kg).

Anti-IR ULD injekcijos davė žymų ($p<0,05$) gliukozės kiekio žiurkių kraujo plazmoje kritimą, tačiau anti-IR ULD + anti-eNOS ULD komplekso panaudojimas buvo veiksmingesnis ($p<0,001$ lyginant su kontrole) (Fig.3).

Rezultatai buvo patvirtinti duomenimis, gautais atliekant gliukozės tolerancijos testą, kuris buvo vykdomas 28-tą preparatų leidimo dieną. Anti-IR ULD injekcijos davė gliukozės tolerancijos padidėjimą (statistiškai nereikšmingas 44% AUC lyginant su kontrole). Tuo pačiu metu šio parametro (AUC) sumažėjimas, kurį sukėlė anti-IR ULD + anti-eNOS ULD komplekso suleidimas, buvo 62% ir jis buvo statistiškai reikšmingas, lyginant su kontrole ($p<0,05$).

8 pavyzdys

Buvo naudojami tokie preparatai: 300 mg tabletės, impregnuotos triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100, išgrynintų per antigeną, aktyvuotos-potencijuotos formos ultramažų dozių (anti-S-100 ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, vandeniniu alkoholiniu tirpalu (3 mg/tabletei); 300 mg tabletės, impregnuotos farmacinės kompozicijos, susidedančios iš triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 (anti-S-100) ir prieš eNOS (anti-eNOS) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių (ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-

kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, (anti-S100+anti-eNOS ULD), vandeniniais-alkoholiniais tirpalais (6 mg/tabletei); 300 mg tabletės, impregnuotos triušio polikloninių antikūnų prieš eNOS, išgrynintų per antigeną, aktyvuotos-potencijuotos formos ultramažų dozių (anti-S-100 ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, vandeniniu alkoholiniu tirpalu (3 mg/tabletei); ir, kaip placebo, 300 mg tabletės, kuriose yra pagalbinės medžiagos: laktozė (laktozės monohidratas) – 267 mg, mikrokristalinė celiuliozė – 30 mg, magnio stearatas – 3 mg.

Tirtųjų vaistų veiksmingumas gydant galvos svaigimą (vertigo) ir kitus judėjimo sukiamus pykinimus buvo vertinamas, panaudojant kinetozės modelį arba judėjimo ligas/judėjimo sukiamą pykinimą, kurie atsiranda dėl vestibuliarinių vegetacinių sutrikimų. Galvos svaigimas yra tipiškas įvairios prigimties vestibuliarinio analizatoriaus pažeidimo ženklas, įskaitant vestibuliarinio nervo ir sraiginės sistemos funkcijos sutrikimą, kraujo apytakos apsunkinimą galvos smegenyse, centrinės nervų sistemos (CNS) patologiją ir t.t. Galvos svaigimą kaip kinetozės pasireiškimą lydi kiti vestibuliniai-vegetaciniai sutrikimai, į kuriuos įeina trys reakcijų tipai: vestibulinis-motorinis (nistagmas ir deviacijos reakcija), vestibuliarinis-sensorinis (apart galvos svaigimo, nistagmas (arba postrotacijos reakcija) yra gynybiniai judesiai) ir vegetacinis (šleikštulys, vėmimas, prakaitavimas, smarkus širdies plakimas, karščio pylimas, pulso ir kraujo spaudimo fliuktuacijos).

Norint nustatyti įvairių kompozicijų poveikio prieš judėjimo sukiamą pykinimą savybes, buvo atliktas dvigubai aklas, kontroliuojamas placebo palyginamasis tyrimas lygagrečiose grupėse, susidedančiose iš 15 somatiškai sveikų subjektų – vyrų ir moterų nuo 15 iki 60 metų amžiaus (vidutinis amžius $33,3 \pm 0,75$ metai) su mažu ($n = 5$; 33%) arba vidutiniu ($n = 10$; 67%) rezistentiškumo judėjimo sukiamam pykinimui laipsniu. 1 grupė gavo anti-S100 + anti-eNOS ULD, 2 grupė – anti-S100 ULD ir 3 grupė – anti-eNOS.

Norint imituoti judėjimo sukiamą pykinimą ir įvertinti tiriamųjų vaistų poveikį, buvo panaudoti tinkamiausi ir pripažinti kinetozės modeliai – nepertraukiamo kumuliacinio greitejimo Coriolis testas (CCEAC). Visų tirtųjų subjektų pradinė tolerancija CCAEC teste buvo ne daugiau 5 minučių. Kinetinio poveikio sukelti vestibuliniai-vegetaciniai sutrikimai buvo registruojami naudojant diagnostinių metodų kompleksą, įskaitant subjektų

apklausą, kiekybinį vestibuliarinio-vegetatyvinio jautrumo sutrikimų įvertinimą (Halle skalė), širdies susitraukimų dažnio kitimų (HRV) analizę ir funkcinės būklės saviįvertinimą (WBAM – savijauta, aktyvumas ir nuotaika). Kaip tirtojo gydymo veiksmingumo kriterijai buvo vertinama tolerancijos dinamika ir išgijimo laikotarpis po kinetinio poveikio, o taip pat ir sensorinių-motorinių reakcijų (nistagmo) duomenų rodikliai, HRV rodikliai (naudojant Biocom Wellness Scan sistemą, sukurtą AWS, LLC pagal Europos kardiologų asociacijos ir Šiaurės Amerikos elektrofiziologų asociacijos internacionalinį standartą) ir WBAM duomenis. Saugumo kriterijais buvo galimų kenksmingų poveikių (AE) gydymo metu, susijusių su vaistų priėmimu, charakteris, akivaizdumas ir atsiradimo laikas; tirtųjų vaistų įtaka į rodiklius, kurie charakterizuoja centrinės nervų sistemos (CNS) veiklą (reakcija į judantį objektą (RMO)), paprastos motorinės reakcijos laikas (TSMR); fizinių ir funkcinų faktorių (širdies susitraukimų dažnis (HR), sistolinis ir diastolinis kraujo spaudimas (SBP, DBP), Stange testas, fizinių pratimų toleravimas (Harvardo laiptų testo rodiklis) dinamika. Saugumas buvo įvertintas po anti-S-100 ir anti-eNOS ULD derinio vienos dozės priėmimo ir po 7 dienų vaisto vartojimo kurso.

Visi subjektai vieną mėnesį prieš pradedant tyrimą negavo jokių vaistų. Po atrankos subjektai buvo atsitiktinai padalinti į 4 grupes (1 grupė - anti-S100+anti-eNOS ULD, 2 grupė – anti-S100 ULD, 3 grupė – anti-eNOS ULD ir 4 grupė – placebo).

Pirmąją tyrimo dieną (1 vizitas) buvo aprašyta žmonių funkcinė ir psichofiziologinė būklė, tada jiems duotos 5 tabletės atitinkamų antikūnų ULD, po to buvo atliktas CCEAC testas. Aprašyta testo trukmė; panaudojant kompleksinę diagnostinę aplausą, nustatyti vegetatyviniai-vestibuliariniai sutrikimai ir su judėjimo sukeliamu pykinimu susiję AE. Per kitas 2-6 dienas subjektai gavo paskirto vaisto po 1 tabletę 3 kartus per dieną. Septintą dieną (2 vizitas) subjektams duota dozė buvo tokia pati kaip ir pirmą dieną (1 vizitas). Diagnostinių tyrimų kompleksas buvo atliktas prieš ir po CCEAC testo. Tyrimas buvo organizuotas taip, kad tyrimų komanda dirbtų tik su vienu subjektu. Tyrimas buvo lygiagretus ir vykdomas pirmojoje dienos pusėje, dalyvaujant, kaip taisyklė, 4 asmenims per dieną (po vieną asmenį vaistui arba placeboi). Kitas tris savaites buvo išvalymo laikotarpis, o jo gale kiekvienai žmonių grupei buvo paskirtas naujas vaistas arba placebo; tyrimo ciklas buvo kartojamas (1 vizitas, vaisto vartojimo kursas, 2 vizitas). Tokiu būdu kiekvienas subjektas dalyvavo kiekvienoje grupėje su trijų savaičių trukmės išvalymo laikotarpiu tarp kiekvieno ciklo. Tai

leido tyrinėtojų suvienodinti visokius tiriamojo asmens savitumus gydymo poveikiui. Vaisto veiksmingumo analizė buvo atlikta su visų tiriamųjų subjektų, kurie praėjo visą gydymo kursą tiriamuoju vaistu pagal tyrimo protokolą, duomenimis (n=15).

Judėjimo sukulto pykinimo simptomų (vertigo, vėmimas, neveiklumas, odos blyškumas, prakaitavimas ir t.t.) įrodymo po kinetinio poveikio (CCEAC) faktorių priklausomybė nuo foninio tiriamųjų vaistų vienadienės dozės įvedimo parodė, kad visiems tirtiesiems subjektams buvo maždaug vienodas judėjimo sukeltas pykinimas; gydytojo-tyrėjo nustatytų vegetacinių funkcijų sutrikimo pagal Halle skalę duomenys taip pat beveik nesiskyrė visose tyrimo grupėse (7 lentelė, 1 vizitas). Vis dėlto, kinetinis pakenkimas, kuris davė panašius į judėjimo sukulto pykinimo simptomus, visose keturiose grupėse buvo skirtingas ir priklausė nuo vaisto, kurį gavo tyrime dalyvaujantys subjektai (8 lentelė, 1 vizitas). Anti-S100 + anti-eNOS ULD vienadienis priėmimas davė aiškesnį judėjimo sukulto pykinimo simptomų sumažėjimą, kuris pasireiškė ne tik žymiai didesniu tolerancijos laiku CCEAC teste ($104,10 \pm 13,14$ sek. lyginant su $68,50 \pm 6,57$ sek. – anti-S100 ULD grupėje; $75,50 \pm 6,79$ sek. – anti-eNOS ULD grupėje; ir $61,30 \pm 3,15$ sek. – placebo grupėje) bet ir mažesniu nistagmo laiku (atitinkamai $9,90 \pm 1,20$ sek. palyginus su $13,50 \pm 1,51$; $16,10 \pm 1,68$ and $13,30 \pm 1,12$ sek) ir maksimaliai greitu pagijimu ($96,90 \pm 13,54$ sek. lyginant su atitinkamai $194,20 \pm 18,45$; $202,50 \pm 21,72$ ir $241,70 \pm 38,41$ sek).

Gana panašūs rodikliai buvo užregistruoti per 2 vizitą, kai tiriamieji subjektai gavo vaistų kursą. Panašioms judėjimo sukulto pykinimo simptomams pasiekti ilgesnis kinetinio poveikio laikas buvo taikomas subjektams, kurie gavo anti-S100 + anti-eNOS ULD kompoziciją 7 dienas (8 lentelė, 2 vizitas). Žymiai ryškesnis anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos poveikis prieš judėjimo sukeltą pykinimą buvo išreikštas trumpesniu nistagmo laiku ($9,50 \pm 1,38$ sek, $p < 0,01$) ir išgijimo laikotarpio trukme ($117,90 \pm 15,65$ sek., $p < 0,01$). Vienkomponentinis preparatas anti-S100 ULD pasižymėjo geresniais poveikio prieš judėjimo sukeltą pykinimą tolerancijos rodikliais CCEAC teste, nistagmo ir išgijimo laiku lyginant su placebo (8 lentelė, 1 ir 2 vizitai), bet anti-S100 ULD veiksmingumas buvo mažesnis už anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos veiksmingumą. Vienkomponentinis preparatas anti-eNOS ULD nerodė jokio poveikio prieš judėjimo sukeltą pykinimą, kadangi CCEAC testų ir paskesnio išgijimo laiko rezultatai nelabai skyrėsi nuo placebo grupės (8 lentelė, 1 ir 2 vizitai). CCEAC testo rodiklius anti-S100 + anti-eNOS ULD ir anti-

S100 ULD grupėse, kai buvo skirta tik vienadienė dozė, palyginamoji analizė parodė, kad anti-eNOS pridėjimas padidino toleranciją judėjimo poveikiui 52%, sumažino nistagmo laiką 27% ir sutrumpino išgijimo po kinetinio poveikio laiką 50%, įskaitant galvos sukimosi laiką – 49%. Vis dėlto, didžiausias anti-eNOS komponento įnašas suteikė veiksmingumą kombinuotam preparatui (anti-S100 + anti-eNOS ULD) vaisto vartojimo kurso eigoje, kuris buvo išreikštas rezultato, pasiekto anti-S100 ULD grupėje, 30% padidėjimu pagal toleranciją judėjimo poveikiui ir nistagmo trukmei (abiejų parametų reikšmėms). Be to, poveikio padidėjimas per 2 vizitą pagal toleranciją CCEAC teste ir nistagmo trukmę, palyginus su 1 vizito duomenimis, kai buvo vartojama anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija, lyginant su vienkomponentiniu preparatu anti-S100, buvo išreikštas didesniu laipsniu, ką rodo šių rodiklių 30% ir 4% pokytis (palyginus su 21% ir 0% anti-S100 ULD grupėje). Įvertinant vaistų veiksmingumą prieš judėjimo sukeltą pykinimą ypatingas dėmesys buvo kreipiamas į galimą vaistų įnašą į autonominės nervų sistemos (ANS) stabilumą, būtent į balanso tarp simpatinės ir parasimpatinės sričių poslinkį. Šiam tikslui kiekvieno vizito metu buvo tiriami HRV parametrai ramybės būklėje ir atliekant funkcinis testus (kvėpavimo ir ortostatinį testus).

7 lentelė

Halle skalės rodiklių priklausomybė nuo panaudoto preparato po CCEAC testo

Preparatas	Halle skalė (taškai)	
	1 vizitas (vienadienis vartojimas) (n=15; Vidurkis±SN)	2 vizitas (vaisto vartojimo kursas) (n=15; Vidurkis±SN)
anti-S100 + anti-eNOS ULD	12,00±0,63	12,30±0,59
anti-S100 ULD	13,30±0,65	12,30±0,46
anti-eNOS ULD	13,10±0,78	12,00±0,55
Placebas	13,40±0,77	13,30±0,45

8 lentelė

CCEAC testo rodiklių priklausomybės nuo panaudoto preparato dinamika

Preparatas	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		
	CCEAC testo tolerancija, sek. (n=15;	Nistagmo laikas, sek. (n=15;	Recovery time, sec. (n=15; M±SD)

	Vidurkis±SN)	Vidurkis±SN)	
anti-S100 + anti-eNOS ULD	104,10±13,14 **	9,90±1,20 *	96,90±13,54 ***
anti-S100 ULD	68,50±6,57 ×	13,50±1,51	194,20±18,45 ×××
anti-eNOS ULD	75,00±6,79	16,10±1,68	202,50±21,72 ×××
Placebas	61,30±3,15	13,30±1,12	241,70±38,41
Kruskal-Wallis testo ¹	0,0182	0,0658	0,0001
P reikšmė			
2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)			
anti-S100 + anti-eNOS ULD	134,70±20,24 **	9,50±1,38 **	117,90±15,65 **
anti-S100 ULD	82,70±10,33	13,50±1,69	167,50±14,72 ×
anti-eNOS ULD	74,30±9,49 ×	17,30±2,40 ×××	209,20±21,62 ××
Placebas	63,70±3,91	15,00±1,47	199,60±31,19
Kruskal-Wallis testo ¹	0,0341	0,0244	0,0061
P reikšmė			

Pastabos:

¹reikšmingo skirtumo tarp grupių nustatymui buvo panaudotas Kruskai-Walls testas. Jeigu testas rodė didelį $p < 0,05$ skirtumą lyginant grupes vieną su kita, tada buvo naudojamas Mann-Whitney testas.

*didelis skirtumas lyginant su placebo, $p < 0,05$;

**didelis skirtumas lyginant su placebo, $p < 0,01$;

***didelis skirtumas lyginant su placebo, $p < 0,001$.

× didelis skirtumas lyginant su anti-S100 + anti-eNOS, $p < 0,05$;

×× didelis skirtumas lyginant su anti-S100 + anti-eNOS, $p < 0,01$;

××× didelis skirtumas lyginant su anti-S100 + anti-eNOS, $p < 0,001$.

HRV prieš ir po CCEAC testą ramybės būsenoje (sėdint) analizė (9 lentelė) parodė, kad tiriamuosius vaistus gavusiems subjektams stebima SDNN greičio padidėjimo tendencija, rodanti širdies susitraukimų dažnio kaitaliojimąsi dėl parasimpatinio poveikio į širdies ritmą. Kaip atsakas į kinetinį poveikį visose tyrimo grupėse padidėjo RMS-SD reikšmė, kuri charakterizuoja autonominio reguliavimo parasimpatinio komponento aktyvumą. Grupėse, gavusiose kompoziciją anti-S100 ULD + anti-eNOS ULD, pastebėtas HF padidėjimas, kas taip pat rodo autonominio balanso poslinkį į parasimpatinę pusę. Taigi, atlikus CCEAC testus, visose grupėse buvo stebimas parasimpatinių poveikių į širdies susitraukimų dažnį padidėjimas.

Tyrimo dalyvių HRV parametrai ramybės būklėje prieš ir po kinetinio poveikio

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)	
	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo
anti-S100 + anti-eNOS ULD groupė (Vidurkis±SN)				
SDNN, msek.	57,7±5,51	68,2±7,42	59,4±5,03	65,6±4,66
RMSSD, msek.	43,1±6,77	51,4±9,22	47,0±6,21	47,6±5,33
TP, msek. ²	979,0±186,06	1678,3±397,1#	1067,2±167,24	1381,0±166,30
LF, msek. ²	437,5±709,6	709,6±178,72	391,9±75,61	588,5±87,48
HF, msek. ²	171,5±51,08	228,4±76,79	206,5±58,32	218,5±43,96
LF/HF, s.v.	4,2±0,82	4,9±0,83	3,3±0,83	42,2±0,91
anti-S100 ULD groupė (Vidurkis±SN)				
SDNN, msek.	60,9±4,62	70,9±5,90	59,1±4,80	68,8±4,87
RMSSD, msek.	44,3±5,39	50,6±6,56	42,4±4,63	47,8±5,57
TP, msek. ²	832,2±124,93*	1342,8±217,09	841,4±149,93	1288,0±163,52#
LF, msek. ²	315,2±52,38*	550,9±72,44#	313,6±66,71	540,7±87,57#
HF, msek. ²	151,4±41,19	247,0±69,53#	138,3±38,42	187,1±39,80
LF/HF, s.v.	3,0±0,54	4,0±0,2	2,8±0,53	4,0±0,52
anti-eNOS ULD groupė (Vidurkis±SN)				
SDNN, msek.	67,4±7,73	78,6±6,14	65,8±8,68	69,0±5,23
RMSSD, msek.	53,0±8,86	58,4±7,68	59,6±12,45	52,2±5,30
TP, msek. ²	1307,8±324,24	1841,1±359,79#	1232,3±292,51	1275,4±172,47
LF, msek. ²	576,5±167,07	849,9±194,2#	527,2±167,07	562,1±89,38
HF, msek. ²	313,3±139,90	285,3±65,92	218,9±74,78	216,3±63,72
LF/HF, s.v.	3,6±0,87	3,9±0,82	3,7±1,14	3,8±0,58
Placebo groupė (Vidurkis±SN)				
SDNN, msek.	64,6±6,10	75,7±6,42	61,1±6,72	70,8±6,79
RMSSD, msek.	50,9±7,74	53,1±6,62	44,6±6,63	44,3±5,31
TP, msek. ²	1062,2±150,02	1917,8±318,96#	898,8±169,62	1418,5±227,59#
LF, msek. ²	440,6±77,30	832,4±181,15	334,8±75,94	611,4±113,64#

HF, msek. ²	253,9±59,95	266,7±61,94	166,0±48,14	174,1±44,96
LF/HF, s.v.	3,4±0,72	5,0±1,33	3,4±0,93	4,8±0,83

Pastaba: * *didelis skirtumas lyginant su placebo, $p \leq 0,05$.

didelis skirtumas lyginant su bazinės linijos parametrais, $p \leq 0,05$.

HRV analizė pereinamosiose būsenose parodė, kad anti-S100 ULD + anti-eNOS ULD kompozicijos vienadienis priėmimas padidino reakcijos laiką ($13,9 \pm 1,14$; $p \leq 0,05$) ir stabilizacijos laiką ($24,2 \pm 1,28$; $p \leq 0,05$) lyginant su anti-S100 ULD ir placebo. Tie patys faktoriai viršijo placebo grupės reikšmes ir po kinetinio poveikio, kas parodė vaisto-derinio teigiamą efektą į ANS reaktyvumą (tolerancijos į kūno padėties pokyčius padidėjimą). Mažiausias skirtumas tarp maksimalios ir minimalios širdies susitraukimo dažnio reikšmės kvėpavimo teste patvirtino geresnį abiejų ANS dalių balansą po vienadienės anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos dozės ($25,1 \pm 2,66$ kartų/min, $p \leq 0,05$). Savaitės gydymo kurso pabaigoje stabilizuojantis poveikis į ANS balansą po CCEAC testo (ortostatinis ir kvėpavimo testai) taip pat buvo pastebėtas grupėje, kuri gavo anti-S100 + anti-eNOS ULD kompoziciją (10 ir 11 lentelės).

10 lentelė

Tyrimo dalyvių HRV parametrai ortostatiname teste prieš ir po kinetinio poveikio

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)	
	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
Reakcija į pratimus, s.v.	1,30±0,06	1,40±0,04	1,30±0,06	1,40±0,06
Reakcijos laikas, sek.	13,9±1,14*×	12,7±1,24*	11,8±0,57	11,7±1,09
Stabilizacijos laikas, sek.	24,2±1,28*×	21,9±1,44*	20,6±0,74	22,4±1,44*×
anti-S100 ULD (vidurkis±SN) grupė				
Reakcija į pratimus, s.v.	1,40±0,04	1,30±0,04	1,30±0,04	1,30±0,05
Reakcijos laikas, sek.	7,60±1,05	10,6±1,55	9,7±1,21	10,0±1,73
Stabilizacijos laikas, sek.	15,1±1,16*	18,3±1,43	18,0±1,18	18,0±1,80
anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
Reakcija į pratimus,	1,30±0,04	1,30±0,04	1,50 ± 0,12	1,30±0,04

s.v.				
Reakcijos laikas, sek.	8,20±0,94	9,10±1,12	9,2 ± 0,77	8,3±0,70
Stabilizacijos laikas, sek.	16,5±1,02	17,1±1,33	19,0 ± 2,04	16,7±0,98
Placebo grupė (vidurkis±SN)				
Reakcija į pratimus, s.v.	1,30±0,04	1,30±0,04	1,40 ± 0,06	1,30±0,06
Reakcijos laikas, sek.	9,5±1,28	8,1±0,90	10,4 ± 1,58	8,8±1,09
Stabilizacijos laikas, sek.	18,3±0,94	16,8±1,09	18,0 ± 1,37	16,5±1,11

Pastaba: * *didelis skirtumas lyginant su placebo, $p \leq 0,05$;

× didelis skirtumas lyginant su anti-S100 ULD, $p \leq 0,05$.

11 lentelė

Tyrimo dalyvių HRV parametrai kvėpavimo teste prieš ir po kinetinio poveikio

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)	
	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo		Po vaisto priėmimo
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
Koreliacija max HR / min HR, s.v.	1.5 ± 0.05*	1.5 ± 0.06	1.5 ± 0.05	1.5 ± 0.05
Skirtumas max HR – min HR, kartų/min.	25.1 ± 2.66*	26.5 ± 2.77	26.5 ± 2.37	24.9 ± 2.24*
anti-S100 ULD (vidurkis±SN) grupė				
Koreliacija max HR / min HR, s.v.	1.5±0.06	1.6±0.05	1.5±0.04	1.6±0.06
Skirtumas max HR – min HR, kartų/min.	27.7±2.68	27.2±2.40	25.7±2.24	26.9±2.67
anti-eNOS ULD(vidurkis±SN) grupė				
Koreliacija max HR / min HR, s.v.	1.5±0.05	1.5±0.04	1.5±0.06	1.6±0.05
Skirtumas max HR – min HR, kartų/min.	26.7±2.44	26.2±2.04	27.7±2.47	27.3±2.12
Placebo grupė (vidurkis±SN)				
Koreliacija max HR / min HR, s.v.	1.6±0.07	1.6±0.06	1.5±0.05	1.6±0.05

Skirtumas max HR – min HR, kartų/min.	31.2±3.06	28.2±2.50	27.7±2.37	29.2±2.44
---	-----------	-----------	-----------	-----------

Pastaba: * *didelis skirtumas lyginant su placebo, $p \leq 0,05$.

Savos funkcinės būklės įvertinimo (savijauta, aktyvumas, nuotaika), kurį atliko patys tyrimo dalyviai po judėjimo sukkelto pykinimo imitavimo (CCEAC testai) gydymo pradžioje ir gale, rezultatai parodė, visų grupių subjektai kiekvienam iš šių parametrų priskyrė „vidutinius“ balus (12 lentelė). Taigi vaistų vartojimo požiūriu CCEAC toleravimas buvo patenkinamas. Didžiausi padidėjimo koeficientai, lyginant su placebo grupės duomenimis 7-tos vaisto vartojimo dienos pabaigoje (daugiau nei 10%), buvo pastebėti anti-S100 + anti-eNOS kompozicijos grupėje.

12 lentelė

Tyrimo dalyvių atliktos savo funkcinės būklės (savijautos-aktyvumo-nuotaikos) įvertinimo parametrų dinamika

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)	2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė		
Savijauta	4,3±0,26	4,6±0,27
Aktyvumas	4,2±0,20	4,2±0,22
Nuotaika	5,0±0,16	5,2±0,13
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė		
Savijauta	3,7±0,21	4,3±0,22
Aktyvumas	3,6±0,17	4,0±0,19
Nuotaika	4,5±0,16	4,9±0,19
anti-S100 ULD (vidurkis±SN) grupė		
Savijauta	3,9±0,25	4,1±0,26
Aktyvumas	3,8±0,25	3,9±0,23
Nuotaika	4,4±0,19	4,6±0,19
Placebo grupė (vidurkis±SN)		
Savijauta	4,0±0,24	4,0±0,24
Aktyvumas	3,8±0,20	3,7±0,26
Nuotaika	4,3±0,20	4,7±0,24

Saugumo analizė apėmė visų tyrime dalyvavusių subjektų duomenis. Stebėjimo laikotarpiu buvo pastebėtas geras tirtųjų preparatų toleravimas. Nebuvo nustatyta jokių su

vaisto vartojimu susijusių kenksmingų šalutinių poveikių. Visi tirtųjų grupių subjektai baigė gydymą tyrimo protokole nustatytu laiku; iš tyrimo anksti iškritusių asmenų nebuvo.

Tyrimo metu pagal fizinio apžiūrėjimo duomenis, įskaitant širdies susitraukimų dažnį, sistolinio ir diastolinio kraujo spaudimo rodiklius ir pagal Harvardo laiptų testo duomenis nebuvo užregistruota subjektų su kokiais nors nenormalumais. (13 lentelė). Visi identifikuoti pokyčiai buvo normos ribose. Šiuo atveju subjektyviai imant visi subjektai jautėsi gerai.

13 lentelė

Tyrimo dalyvių fizinių parametrų ir pratimų toleravimo parametrų dinamika prieš ir po kinetinio poveikio

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)	
	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
HR (tvinksniai/min)	74,6±3,36	68,4±3,67	74,1±3,10	67,7±2,62
Sistolinis kraujo spaudimas (mmHg)	123,4±2,83	125,9±4,08	121,8±2,65	128,3±4,25
Diastolinis kraujo spaudimas (mmHg)	74,0±3,09	79,3±2,62	76,2±2,43	80,3±3,30
Laiptų testo rodiklis	–	53,6±2,60	–	52,3±2,09
anti-S100 ULD (vidurkis±SN) grupė				
HR (tvinksniai/min)	73,5±2,57	69,7±2,78	72,1±2,84	67,7±2,39
Sistolinis kraujo spaudimas (mmHg)	127,5±2,55	133,5±4,77	127,1±2,55	129,9±5,06
Diastolinis kraujo spaudimas (mmHg)	75,5±2,65	82,6±3,31	74,9±2,41	82,3±3,19
Laiptų testo rodiklis	–	50,6±1,71	–	53,0±1,63
anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
HR (tvinksniai/min)	76,5±2,59	67,3±1,98	77,3±2,02	70,1±3,23
Sistolinis kraujo spaudimas	127,3±3,14	131,5±5,16	123,5±3,06	129,3±4,13

(mmHg)				
Diastolinis kraujo spaudimas (mmHg)	75,2±2,24	80,3±2,66	73,9±2,83	81,0±3,22
Laiptų testo rodiklis	–	51,8±2,12	–	51,2±2,21
Placebo grupė (Vidurkis±SN)				
HR (tvinksniai/min)	74,5±2,78	68,9±3,46	73,9±3,23	72,3±3,58
Sistolinis kraujo spaudimas (mmHg)	125,3±3,30	133,3±4,73	124,3±2,83	126,9±3,95
Diastolinis kraujo spaudimas (mmHg)	76,2±2,15	81,7±2,83	75,4±1,86	79,7±3,03
Laiptų testo rodiklis	–	50,0±2,03	–	50,1±1,99

Apart hemodinaminių parametru, tirtųjų vaistų saugumui ir jų galimam neigiamam įnašui į centrinės nervų sistemos funkcijas įvertinti buvo tiriama tokių subjektų psichologiniai parametrai (RMO (reakcija į judantį objektą), SMRT (paprastos motorinės reakcijos laikas), RA (dėmesio apimtis), dėmesio trukmė (AS) ir dėmesio stabilumo faktorius (ASF). Be to, hipoksijos toleravimui įvertinti buvo daromas Stange testas.

Pagal gautus rezultatus (9 lentelė) matyti, kad nei vienadienis vaisto priėmimas, nei vaisto vartojimo kursas neturėjo pastebimos įtakos vertinamiems parametrams. Sensorinės motorinės koordinacijos rodikliai (SMRT, RMO) abiejų vizitų metu nesiskiria nuo placebo grupės duomenų prieš CCEAC ir po jo. Tokių sudėtingų funkcijų kaip dėmesio apimtis ir stabilumas tyrimo duomenys parodė, kad tirtieji vaistai tiek prieš, tiek ir po CCEAC testo nepakeitė susikoncentravimo laipsnio ir dėmesio poslinkio ir nesiskiria nuo placebo grupės duomenų.

Standartinių pratimų testų su kvėpavimo sulaikymu analizė parodė, kad subjektai geriau toleruoja hipoksiją (14 lentelė). Kvėpavimo sulaikymo metu Stange testo trukmė augo po visų tyrimo vaistų priėmimo. Vis dėlto, tik derinio kompozicijos anti-S100 + anti-eNOS įvedimas rodė žymiai ilgesnį kvėpavimo sulaikymą po kinetinio poveikio ($68,1 \pm 18,8$ sek. bazinėje linijoje ir $91,7 \pm 27,4$ sek. po CCEAC testo, $p < 0,05$). Hipoksijos toleravimo padidėjimas taip pat buvo pastebėtas naudojant Gench testą (Stange testas) (kvėpavimo sulaikymas iškvėpiant, $P > 0,05$).

14 lentelė

Tyrimo dalyvių psichofiziologinės būklės parametrų dinamika prieš ir po kinetinio poveikio

Parametras	1 vizitas (vienadienis vartojimas)		2 vizitas (vaisto vartojimo kursas)	
	Po vaisto priėmimo	Po CCEAC testo		Po vaisto priėmimo
anti-S100 + anti-eNOS ULD (vidurkis±SN) grupė				
SMRT	257,5±8,67	268,9±10,18	269,6±9,75	279,9±12,24
RMO, s.v.	50,1±3,92	49,5±4,50	47,3±4,86	47,0±3,54
RMO, pataikymo %	3,0±0,95	4,5±1,15	5,3±1,58	4,0±1,11
AS, sek.	5,2±0,34	5,2±0,35	5,2±0,41	5,1±0,40
Dėmesio apimtis, sek.	41,7±2,36	39,9±2,38	38,1±2,17	37,5±2,04
ASF	17,4±1,66	17,2±1,51	18,0±1,71	18,8±1,72
Stange testas	68,1±4,85	91,7±7,07*	71,8±6,02	85,5±9,36
Gench testas	47,1±4,03	50,1±3,94	46,7±3,28	48,1±4,52
anti-S100 ULD (vidurkis±SN) grupė				
SMRT	258,9±9,95	282,4±13,56	268,4±11,37	279,1±9,20
RMO, s.v.	58,1±6,40	57,5±6,34	55,1±5,06	53,8±5,02
RMO, pataikymo %	3,7±1,50	2,0±0,82	2,3±0,83	5,0±1,69
AS, sek.	6,0±0,40	6,4±0,52	6,2±0,42	6,0±0,41
Dėmesio apimtis, sek.	42,6±2,68	42,1±2,27	42,7±2,30	41,9±2,52
ASF	14,5±1,16	14,9±1,26	15,3±1,13	15,4±1,18
Stange testas	59,0±4,09	72,6±6,19	64,5±4,93	75,9±5,67
Gench testas	47,1±4,48	49,4±4,69	48,3±4,30	48,8±4,14
anti-eNOS (vidurkis±SN) grupė				
SMRT	257,7±8,49	279,4±14,23	266,7±13,19	275,5±11,44
RMO, s.v.	48,3±3,67	51,9±4,39	52,5±4,79	49,6±4,22
RMO, pataikymo %	2,3±0,83	2,0±0,82	3,3±1,26	5,7±1,68
AS, sek.	5,9±0,25	6,0±0,34	5,5±0,24	5,9±0,33
Dėmesio apimtis, sek.	41,9±2,10	43,8±2,39	41,3±2,00	42,5±2,22
ASF	13,7±1,34	14,8±1,31	15,6±1,24	14,1±1,40
Stange testas	62,5±5,49	69,5±5,09	56,7±3,34	73,1±7,98
Gench testas	43,1±3,51	45,7±3,15	43,4±3,77	45,8±4,03
Placebo grupė (vidurkis±SN)				
SMRT	267,6±7,64	290,1±11,33	281,1±9,78	263,3±6,85
RMO, s.v.	60,7±8,31	54,1±5,57	51,1±3,69	52,6±5,38
RMO, pataikymo %	3,7±1,03	3,7±1,24	3,3±0,93	4,3±1,61

AS, sek.	6,1±0,71	5,7±0,36	5,5±0,32	5,9±0,71
Dėmesio apimtis, sek.	41,9±2,09	42,4±2,81	41,3±2,18	39,6±2,26
ASF	14,5±1,64	14,5±1,79	15,3±1,55	15,9±1,58
Stange testas	63,7±4,71	67,9±6,90	64,8±5,94	83,0±12,24
Gench testas	44,7±2,52	47,1±3,30	43,7±2,71	47,8±3,78

Tokiu būdu, tyrimas, naudojant eksperimentinį judėjimo sukeliama pykinimą, parodė anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos derinio ir monokomponentinio preparato ULD-S100 veiksmingumą. Tirtieji vaistai padidina subjektų atsparumą kinetiniam poveikiui po klinikinių ir fiziologinių judėjimo sukeliama pykinimo klinikinių ir fiziologinių efektų imitavimo, duodami švelnesnius judėjimo sukeliama pykinimo klinikinius procesus ir greitesnį subjektų pasveikimą nutraukus gydymą. Be to, buvo parodyta, kad derinio kompozicijos (anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija) padidina atskirų komponentų veiksmingumą prieš judėjimo sukeliama pykinimą. Derinio kompozicijos anti-S100 + anti-eNOS ULD veiksmingumas kūno vestibuliarinių-autonominų ir sensorinių reakcijų kontroliavimui eksperimentinio judėjimo sukeliama pykinimo atveju didėja gydymo eigoje. Reikia pastebėti, kad anti-eNOS ULD monopreparato formoje neturi apsauginio poveikio prieš judėjimo sukeliama pykinimą, tačiau sumaišius jį su anti-S100, pastarojo poveikis prieš judėjimo sukeliama pykinimą, kuris pasireiškė tik vienadienio jo vartojimo atveju, t.y. trumpai vartojant vaistą, yra stipriai padidinamas. Geriausias sugebėjimas sutvarkyti trumpalaikius procesus, tai yra paveikti parasimpatinių ir simpatinių ANS dalių reaktyvumą, o taip pat ANS adaptacijos gebą judėjimo sukeliama pykinimo būsenoje (padidinti staigių kūno padėties pokyčių toleravimą), kuris yra svarbiausias komponentas vaisto prieš judėjimo sukeltą pykinimą veiksmingumo savybėse, buvo pastebėtas anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos atveju. Anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija ir vienkomponentinis preparatas anti-S100 ULD, naudojant juos kaip preparatus nuo judėjimo sukeliama pykinimo, atliekant operatoriaus funkcijas, yra saugūs ir neturi neigiamo poveikio į fizinius ir psichofiziologinius parametrus.

Derinio kompozicija anti-S100 + anti-eNOS ULD ir anti-S100 ULD gali būti rekomenduota kinetozės palengvinimui ir profilaktikai judėjimo sukeltą pykinimo atveju (įskaitant jūros, oro ir automobilio judėjimo sukeltą vėmimą) žmonėms, turintiems mažą

arba vidutinį stabilumo laipsnį. Derinio kompozicija yra labai saugi ir neturi kenksmingų poveikių į profesinės veiklos kokybę.

9 pavyzdys

Tiriant šios paraiškos derinio farmacinės kompozicijos savybes psichoorganinio sindromo gydymui buvo naudojamos 300 mg tabletės. Tabletės buvo impregnuotos farmacinės kompozicijos, susidedančios iš triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100, išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu (anti-S100), ir prieš endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, vandeniniais-alkoholiniais tirpalais (6 mg/tabletei).

Kontrolinės grupės pacientai gavo 300 mg tabletes, impregnuotas farmacine kompozicija iš triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100, išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu (anti-S-100) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių (ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, vandeniniais-alkoholiniais tirpalais (6 mg/tabletei).

Į tyrimą buvo įtraukti pacientai, kuriems diagnozuotas potrauminės kilmės psichoorganinis sindromas. Psichoorganinis sindromas yra charakterizuojamas tokia požymių triada: atminties silpnumas, supratimo pablogėjimas, emocijų nevaldymas (Walther Buel triada).

Tyrimas buvo atviro žymėjimo, atsitiktinės atrankos, lygiagrečių grupių tipo pacientų su potrauminės kilmės psichoorganiniu sindromu klinikinis gydymo veiksmingumo ir saugumo bandymas (pirmoji pacientų grupė gavo anti-S100 ULD preparatą, antroji pacientų grupė - anti-S100 + anti-eNOS ULD preparatą).

Tyrime dalyvavo 6 pacientai nuo 35 iki 90 metų amžiaus (amžiaus vidurkis $70,83 \pm 21,95$), kuriems buvo diagnozuotas psichoorganinis sindromas.

Buvo patikrintas pacientų sutikimas šiems įtraukimo ir atmetimo kriterijams:

Įtraukimo kriterijai:

1. Pacientai, kuriems diagnozuota potrauminė encefalopatija su psichoorganiniu sindromu arba kompleksinės etiologijos (vaskulinės, potrauminės) encefalopatija su psichoorganiniu sindromu, patvirtintos ligos istorija, neurologiniais tyrimais ir medicininiais įrašais.
2. Pacientai be lydinčiosios terapijos pakeitimų mažiausiai vieno mėnesio laikotarpyje prieš 1 vizitą.
3. Nereikalingas lydinčiosios terapijos keitimas per visą stebėjimo laikotarpį.
4. Nereikalingas imunomoduliacinių vaistų skyrimas kitus 6 mėnesius.
5. Pacientai, kurių išsimokslinimo lygis yra pakankamas adekvačiam bendravimui su tyrėju ir tyrimo koordinatoriumi.
6. Pacientai, kuriuos tyrinėtojas įvertino kaip patikimus ir pasiruošusius dalyvauti visuose užplanuotuose klinikiniuose vizituose, testuose ir procedūrose pagal protokolą.
7. Pacientai turintys galiojantį namų adresą.

Atmetimo kriterijai:

1. Ligos istorijoje nėra smegenų chirurginių operacijų.
2. Ūmus miokardo infarktas.
3. Hemoraginis priepuolis.
4. Psichozė, bipolinis sutrikimas arba šizoafektinis sutrikimas ligos istorijoje.
5. Žymi depresija pagal tarptautinio neuropsichiatrinio mini interviu (MINI) depresijos modulio kriterijus.
6. Medicininio arba kitokio charakterio faktoriai/būklės, kurie pagal tyrėjo nuomonę gali paveikti tiriamųjų pacientų testo rezultatus.
7. Atsakymai „2A“, „2B“, „2C“ arba „3“ Beck Depression klausimyno „I“ skyriuje (aktyvi savižudybės idejacija su tam tikru ketinimu veikti be konkretaus plano arba aktyvi savižudybės ideacija su konkrečiu planu ir ketinimu).
8. Autoimuninė liga ligos istorijoje.
9. Ūmus kepenų pakenkimas arba sunki cirozė (C klasė pagal Child-Pugh).
10. Nekoreguotas skydliaukės funkcijos sutrikimas.
11. Dekompensuota arterinė hipertenzija ligos istorijoje.

12. Sunki arba dekompensuota širdies kraujagyslių liga, kepenų liga, inkstų liga, metabolinė, respiratorinė arba hematologinė liga, simptominė periferinių kraujagyslių liga arba kita medicininė arba psichinė būklė, kuri tyrėjo nuomone gali paveikti paciento dalyvavimą tyrime arba galėtų paskatinti ilgą hospitalizaciją arba hospitalizacijos pakartojimą tyrimo metu.
13. Ligos arba būklės, kurios tyrėjo nuomone, gali sukliudyti pacientui dalyvauti tyrime.
14. Vaisto, turinčio anti-eNOS ULD arba vaisto, turinčio anti-S100 ULD, naudojimas prieš paciento įtraukimą į tyrimą.
15. Bet kurios grupės antidepresantų, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
16. Bet kurios grupės anksiolitikų, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
17. Imunomoduliatorių, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
18. Gydyimas sisteminiais steroidais mėnesio prieš 0 vizitą laikotarpyje.
19. Dalyvavimas vaisto, turinčio anti-eNOS ULD arba vaisto, turinčio anti-S100 ULD, tyrime, jeigu pacientas priėmė bent vieną preparato dozę.
20. Dalyvavimas kituose klinikiniuose bandymuose 1 mėnesio prieš įtraukiant į šį tyrimą laikotarpyje.
21. Nėštumas, maitinimas krūtimi, negalėjimas naudoti adekvačią kontracepciją tyrimo laikotarpiu ir 1 mėnesį po paskutinio tiriamojo vaisto priėmimo.
22. Alergijos/netoliaravimo bet kurių vaistų komponento, įskaitant laktozę, buvimas.
23. Pacientai vartojantys narkotinius vaistus ir neuroleptikus, pacientų priklausomybės nuo alkoholio ir psichinės ligos.
24. Pacientai, kurie yra centro, tiesiogiai susijusio ir vykdančio tyrimą, personalas ir (arba) yra tyrimo centro personalo, kuris yra susijęs su vykdomu tyrimu, šeimos nariai. „Šeimos nariai“ yra vyras (žmona), tėvai, vaikai, broliai (seserys).
25. Dalyvavimas teisme arba galimas kompensacijos gavimas, arba dalyvavimas teisminiuose procesuose tyrėjo nuomone.

Nustačius paciento atitikimą įtraukimo ir atmetimo kriterijams, pacientai buvo atsitiktinai padalinti į dvi tyrimo grupes: grupę pacientų, kurie gauna anti-S100 ULD (3

pacientai, moterų – 33,33%, vyrų - 66,66%, vidutinis amžius – $71,33 \pm 16,25$ metai), ir grupė pacientų, kurie gauna anti-S100 + anti-eNOS ULD (3 pacientai, moterų – 66,66%, vyrų - 33,33%, vidutinis amžius – $70,33 \pm 30,66$ metai).

Šio tyrimo metu buvo padaryti penki vizitai. Gydomo fazė truko nuo 1 vizito iki 4 vizito vidutiniškai 84 ± 5 dienas. Ketvirtas vizitas (84 ± 5 diena) buvo pirmasis tyrimo galinis taškas, po kurio ėjo paskesnis stebėjimas. Stebėjimo fazė tęsėsi nuo 4 vizito iki 5 vizito (vidutiniškai iki 168 ± 5 dienos).

Saugumo analizėje buvo imami visų tyrime dalyvaujančių pacientų ($n = 6$) duomenys. Tyrimo metu buvo užregistruotas geras vaisto toleravimas. Nebuvo užregistruota jokių kenksmingų vaisto poveikių. Visi tyrimo grupių dalyviai baigė gydymą pagal protokolą; ankstyvų iškritimų nebuvo.

Buvo vertinamas anti-S100 + anti-eNOS preparato poveikis į paciento pagrindinius psichoorganinio sindromo požymius ir simptomus (NPI neuropsichiatrinė inventorizacija, intensyvumo dalis), į pacientą lydinčių asmens negalavimų intensyvumą (NPI neuropsichiatrinė inventorizacija, lydinčių negalavimų dalis), o taip pat ir į paciento pažintines funkcijas (Mini pažintinės būklės tyrimas MMSE). Buvo rastas pagrindinių psichoorganinio sindromo faktorių pagerėjimas, toks kaip statistiškai reikšmingas NPI neuropsichiatrinės inventorizacijos intensyvumo dalies sumažėjimas (nuo $91,0 \pm 15,13$ iki $69,0 \pm 6,24$, $p < 0,05$), NPI neuropsichiatrinės inventorizacijos lydinčių negalavimų dalies balų skaičiaus sumažėjimas (nuo $44,33 \pm 17,78$ iki $36,33 \pm 3,21$, $p < 0,05$) 4 vizito metu (15 lentelė).

Pacientų, gavusių vien tik anti-S100 ULD grupėjej nebuvo užregistruota jokio klinikinio pagerėjimo.

Be to, skirtumas tarp pacientų grupių NPI neuropsichiatrinės inventorizacijos intensyvumo dalies bendro balų skaičiaus gydymo pabaigoje buvo statistiškai reikšmingas, $p < 0,05$.

15 lentelė

	NPI (intensyvumas)	NPI (negalavimai)	ADS-ADL	MMSE
anti-S100+anti-eNOS ULD prieš	91,0+15,13	44,33+17,78	42,66+4,93	22,33+3,21

gydymą				
anti-S100+anti-eNOS ULD po gydymo	69,0+6,244*#	36,33+3,21*	52,0+5,57	22,66+2,08
anti-S100 ULD prieš gydymą	114,0+25,53	45,66+14,47	33,0+13,89	22,33+4,16
anti-S100 ULD po gydymo	99,66+18,0	49,0+17,05	31,66+10,69	23,0+4,36

* - p nuo bazinės linijos <0,05; # - p nuo kontrolės <0,05

Tokiu būdu, atliktame klinikiniam tyrimo derinio farmacinė kompozicija anti-S100 + anti-eNOS ULD turėjo teigiamą poveikį į psichoorganinio sindromo pagrindinius klinikinius požymius ir simptomus ir tendenciją veikti pažintines funkcijas su psichoorganiniu sindromu. Be to, buvo patvirtintas geras vaisto toleravimas. Nebuvo užregistruota jokių vaisto kenksmingumo atvejų.

10 pavyzdys

Tiriant šios paraiškos derinio farmacinės kompozicijos savybes Alzheimerio ligos gydymui buvo naudojamos 300 mg tabletės. Tabletės buvo impregnuotos farmacinės kompozicijos, susidedančios iš triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100, išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu (anti-S100), ir prieš endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, vandeniniais-alkoholiniais tirpalais (6 mg/tabletei).

Kontrolinės grupės pacientai gavo 300 mg tabletes, impregnuotas farmacine kompozicija iš triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100, išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu (anti-S-100) aktyvuotų-potencijuotų formų ultramažų dozių (ULD), gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, vandeniniais-alkoholiniais tirpalais (3 mg/tabletei).

Į tyrimą buvo įtraukti pacientai, kuriems diagnozuota Alzheimerio liga. Alzheimerio ligai yra būdinga demencija (įgyta demencija, pastovus kognityvinio aktyvumo pablogėjimas

su anksčiau įgytų žinių ir praktinių įgūdžių praradimu, sunkumai arba negalėjimas įgyti naujų žinių).

Tyrimas buvo atviro žymėjimo, atsitiktinės atrankos, palyginamasis klinikinis gydymo efektyvumo ir saugumo tyrimas dviejose lygiagrečiose grupėse (anti-S100 ULD ir anti-S100 + anti-eNOS ULD) gydymui pacientų, sergančių nuo nedidelio iki vidutinio sunkumo Alzheimerio liga.

Tyrimo dalyvavo 6 pacientai nuo 55 iki 64 metų amžiaus (amžiaus vidurkis $59,0 \pm 3,58$), kuriems buvo diagnozuota nelabai sunki Alzheimerio liga.

Buvo patikrintas pacientų sutikimas šiems įtraukimo ir atmetimo kriterijams:

Įtraukimo kriterijai buvo tokie:

1. Pacientai, sergantys nelabai sunkia Alzheimerio liga, patvirtinta ligos istorija, neurologiniais ir mediciniais įrašais.
2. Pacientai be lydinčiosios terapijos pakeitimų mažiausiai vieno mėnesio laikotarpyje prieš 1 vizitą.
3. Nereikalingas lydinčiosios terapijos keitimas per visą stebėjimo laikotarpį.
4. Nereikalingas imunomoduliacinių vaistų skyrimas kitus 6 mėnesius.
5. Pacientai, kurių išsimokslinimo lygis yra pakankamas adekvačiam bendravimui su tyrėju ir tyrimo koordinatoriumi.
6. Pacientai, kuriuos tyrinėtojas įvertino kaip patikimus ir pasiruošusius dalyvauti visuose užplanuotuose klinikiuose vizituose, testuose ir procedūrose pagal protokolą.
7. Pacientai turintys galiojantį namų adresą.

Atmetimo kriterijai buvo tokie:

1. Ligos istorijoje nėra smegenų chirurginių operacijų.
2. Ūmus miokardo infarktas.
3. Hemoraginis priepuolis.
4. Psichozė, bipolinis sutrikimas arba šizoafektinis sutrikimas ligos istorijoje.
5. Žymi depresija pagal tarptautinio neuropsichiatrinio mini interviu (MINI) depresijos modulio kriterijus.
6. Medicininio arba kitokio charakterio faktoriai/būklės, kurie pagal tyrėjo nuomonę gali paveikti tiriamųjų pacientų testo rezultatus.

7. Atsakymai „2A“, „2B“, „2C“ arba „3“ Beck Depression klausimyno „I“ skyriuje (aktyvi savižudybės ideacija su tam tikru ketinimu veikti be konkretaus plano arba aktyvi savižudybės ideacija su konkrečiu planu ir ketinimu).
8. Autoimuninė liga ligos istorijoje.
9. Ūmus kepenų pakenkimas arba sunki cirozė (C klasė pagal Child-Pugh).
10. Nekoreguotas skydliaukės funkcijos sutrikimas.
11. Dekompensuota arterinė hipertenzija ligos istorijoje.
12. Sunki arba dekompenasuota širdies kraujagyslių liga, kepenų liga, inkstų liga, metabolinė, respiratorinė arba hematologinė liga, simptominė periferinių kraujagyslių liga arba kita medicininė arba psichinė būklė, kuri tyrėjo nuomone gali paveikti paciento dalyvavimą tyrime arba galėtų paskatinti ilgą hospitalizaciją arba hospitalizacijos pakartojimą tyrimo metu.
13. Ligos arba būklės, kurios tyrėjo nuomone, gali sukliudyti pacientui dalyvauti tyrime.
14. Vaisto, turinčio anti-eNOS ULD arba vaisto, turinčio anti-S100 ULD, naudojimas prieš paciento įtraukimą į tyrimą.
15. Bet kurios grupės antidepresantų, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
16. Bet kurios grupės anksiolitikų, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
17. Imunomoduliatorių, įskaitant augalinius ir homeopatinius preparatus, vartojimas.
18. Gydytas sisteminiais steroidais mėnesio prieš 0 vizitą laikotarpyje.
19. Dalyvavimas vaisto, turinčio anti-eNOS ULD arba vaisto, turinčio anti-S100 ULD, tyrime, jeigu pacientas priėmė bent vieną preparato dozę.
20. Dalyvavimas kituose klinikiniuose bandymuose 1 mėnesio prieš įtraukiant į šį tyrimą laikotarpyje.
21. Nėštumas, maitinimas krūtimi, negalėjimas naudoti adekvačią kontracepciją tyrimo laikotarpiu ir 1 mėnesį po paskutinio tiriamojo vaisto priėmimo.
22. Alergijos/netoliaravimo bet kurių vaistų komponento, įskaitant laktozę, buvimas.
23. Pacientai vartojantys narkotinius vaistus ir neuroleptikus, pacientų priklausomybės nuo alkoholio ir psichinės ligos.

24. Pacientai, kurie yra centro, tiesiogiai susijusio ir vykdančio tyrimą, personalas ir (arba) yra tyrimo centro personalo, kuris yra susijęs su vykdomu tyrimu, šeimos nariai. „Šeimos nariai“ yra vyras (žmona), tėvai, vaikai, broliai (seserys).
25. Dalyvavimas teisme arba galimas kompensacijos gavimas, arba dalyvavimas teisminiuose procesuose tyrėjo nuomone.

Nustačius paciento atitikimą įtraukimo ir atmetimo kriterijams, pacientai buvo atsitiktinai padalinti į dvi tyrimo grupes: grupė pacientų, kurie gauna anti-S100 ULD (3 pacientai, moterų – 100%, vyrų - 0%, vidutinis amžius – $59,0 \pm 3,6$ metai), ir grupė pacientų, kurie gauna anti-S100 + anti-eNOS ULD (3 pacientai, moterų – 66,66%, vyrų - 33,33%, vidutinis amžius – $59,0 \pm 4,36$ metai).

Šio tyrimo metu buvo padaryti penki vizitai. Gydomo fazė truko nuo 1 vizito iki 4 vizito vidutiniškai 84 ± 5 dienas. Ketvirtas vizitas (84 ± 5 dieną) buvo pirmasis tyrimo galinis taškas, po kurio ėjo paskesnis stebėjimas. Stebėjimo fazė tęsėsi nuo 4 vizito iki 5 vizito (vidutiniškai iki 168 ± 5 dienos).

Saugumo analizėje buvo imami visų tyrime dalyvaujančių pacientų ($n = 6$) duomenys. Tyrimo metu buvo užregistruotas geras vaisto toleravimas. Nebuvo užregistruota jokių kenksmingų vaisto poveikių. Visi tyrimo grupių dalyviai baigė gydymą pagal protokolą; ankstyvų iškritimų nebuvo.

Buvo vertinamas anti-S100 + anti-eNOS preparato poveikis į paciento pagrindinius Alzheimerio ligos požymius ir simptomus (NPI neuropsichatinė inventorizacija, intensyvumo dalis), į asmenį lydinčių negalavimų sunkumą (NPI neuropsichatinė inventorizacija, lydinčių negalavimų dalis), o taip pat ir į paciento kognityvines funkcijas (Mini pažintinės būklės tyrimas, MMSE). Buvo rastas pagrindinių Alzheimerio ligos simptomų pagerėjimas, toks kaip statistiškai reikšmingas NPI neuropsichiatrinės inventorizacijos intensyvumo dalies sumažėjimas (nuo $24,33 \pm 4,73$ iki $12,0 \pm 3,46$, $p < 0,05$) 4 vizito metu (16 lentelė).

Taip pat gydymo gale buvo pastebėta tendencija mažinti pacientą lydinčius asmens negalavimus, o taip pat ir paciento kasdienio gyvenimo aktyvumo mažėjimą (tačiau nebuvo statistiškai reikšmingo skirtumo tikriausiai dėl mažo tyrime dalyvaujančių pacientų skaičiaus).

Be to, buvo pastebėta tendencija gerinti kognityvines funkcijas, ką rodo MMSE balų skaičiaus padidėjimas nuo $23,66 \pm 3,21$ iki $26,66 \pm 1,53$ taškų, tačiau šis skirtumas taip pat nėra statistiškai reikšmingas gydymo gale, kas taip pat gali būti susiję su maža mėginio apimtimi.

Ta pati situacija yra ir su pacientų, gavusių vien tik anti-S100 ULD, grupe, kurioje nebuvo stebėta pagerėjimo tendencijos, išskyrus statistiškai nereikšmingą MMSE balo padidėjimą nuo $22,66 \pm 0,58$ iki $23,33 \pm 0,58$ taškų.

Vis tik, bendro MMSE balų skaičiaus skirtumas tarp pacientų grupių gydymo pabaigoje buvo statistiškai reikšmingas, $p < 0,05$.

16 lentelė

	NPI (intensyvumas)	NPI (negalavimai)	ADCS-ADL	MMSE
anti-S100+anti-eNOS ULD prieš gydymą	$24,33 \pm 4,73$	$9,66 \pm 1,53$	$71,0 \pm 6,56$	$23,66 \pm 3,21$
anti-S100+anti-eNOS ULD po gydymo	$12,0 \pm 3,46$ *	$5,0 \pm 3,61$	$74,33 \pm 2,51$	$26,66 \pm 1,53$ #
anti-S100 ULD prieš gydymą	$35,66 \pm 5,50$	$22,33 \pm 5,50$	$61,66 \pm 5,13$	$22,66 \pm 0,58$
anti-S100 ULD po gydymo	$38,33 \pm 8,5$	$23,0 \pm 5,0$	$61,33 \pm 5,86$	$23,33 \pm 0,58$

* - p nuo bazinės linijos $< 0,05$; # - p nuo kontrolės $< 0,05$

Tokiu būdu, atliktame klinikiniame tyrime derinio farmacinė kompozicija anti-S100 + anti-eNOS ULD turėjo teigiamą poveikį į Alzheimerio ligos pagrindinius klinikinius požymius ir simptomus ir tendenciją veikti kognityvines funkcijas su Alzheimerio liga. Be to, buvo patvirtintas geras vaisto toleravimas. Nebuvo užregistruota jokių vaisto kenksmingumo atvejų.

11 pavyzdys

1 grupė – aktyvaus vaisto grupei buvo duodamos 300 mg tabletės, impregnuotos triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 (anti-S-100) ir prieš endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) aktyvuotos-potencijuotos formos ultramažų dozių (anti-S100 ULD + anti-eNOS ULD) išgrynintų per antigeną, gautų panaudojant pradinio

matricinio tirpalo (jo koncentracija 2,5 mg/ml) superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui, vandeniniu alkoholiniu tirpalu (6 mg/tabletei);

2 grupė – palyginamojo vaisto grupei buvo duodamos 300 mg tabletės, impregnuotos triušio polikloninių antikūnų prieš smegenims būdingą baltymą S-100 aktyvuotos-potencijuotos formos ultramažų dozių (anti-S100 ULD) išgrynintų per antigeną, gautų panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{50} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C50 mišiniui, vandeniniu alkoholiniu tirpalu (3 mg/tabletei);

3 grupė – kontrolinei grupei (placebo) buvo duodamos 300 mg tabletės, kuriose yra pagalbinės medžiagos (laktozės monohidratas – 267 mg, mikrokristalinė celiuliozė – 30 mg, magnio stearatas – 3 mg).

Veikliojo vaisto anti-S100 + anti-eNOS ULD efektyvumas pacientams su dėmesio stokos sindromu ir hiperaktyvumo sutrikimu (ADHD) gydyti buvo nustatinėjamas panaudojant palyginamąjį dvigubai aklą, placebo kontroliuojamą tyrimą su 146 vaikais nuo 6 iki 12 metų (vidutinis amžius $9,3 \pm 0,24$ metai), kurie buvo atsitiktinai paskirstyti į 3 grupes priklausomai nuo paskirto gydymo. Per 12 savaičių 1 grupės pacientai ($n = 46$) gavo po 2 tabletes du kartus per dieną anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos; palyginamosios 2 grupės nariai ($n = 46$) gavo po 2 tabletes du kartus per dieną anti-S100 ULD; kontrolinės 3 grupės nariai ($n = 50$) gavo po 2 tabletes du kartus per dieną placebo. Visi įtraukti į tyrimą pacientai turėjo kliniškai išreikštą ADHD, kuris buvo patvirtintas aukštais taškais ADHD simptomų vertinimo skalėje (ADHDRS-IV-Home Version): $33,8 \pm 0,92$ - 1 grupėje; $32,5 \pm 1,14$ - 2 grupėje ir $33,6 \pm 0,91$ - 3 grupėje. Pagal CGI-ADHD-Severity klausimyną dauguma vaikų turėjo vidutinio sunkumo laipsnio ADHD. Bendras balas šioje skalėje buvo $4,0 \pm 0,02$ taškai 1 grupėje, $4,0 \pm 0,03$ taškai 2 grupėje ir $4,0 \pm 0,00$ taškai 3 grupėje. Taigi pradžioje visų trijų grupių pacientai turėjo palyginamus ADHD sunkumo rodiklius. Pagal neurologinių, klinikinių laboratorinių ir instrumentinių tyrimų rezultatus prieš pradedant tyrimą nei vienam pacientui nebuvo rasta jokių anomalijų. Per 12 tyrimo savaičių gydytojas apžiūrėjo pacientus šešis kartus. Per šį laikotarpį gydytojas-tyrėjas registravo klinikinio ADHD pasireiškimo intensyvumo dinamiką (bendrą balų skaičių pagal ADHDRS-IV-Home Version) ir ligos

sunkumą (pagal CGI-ADHD-Severity), prižiūrėjo vaistų paskyrimus ir vartojimą ir įvertino gydymo saugumą.

Dvylikos savaičių trukmės gydymo efektyvumas visose trijose grupėse parodė daugiau nei 25% sumažėjimą nuo pradinio bendro balo ADHDRS-IV-Home Version skalėje 75-se % ($n = 36$) vaikų gydytų anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija; 66-se % ($n = 33$) pacientų gydytų anti-S100 ULD ir 56-se % vaikų gavusių placebo. Efektyvumo skirtumai tarp grupių, rodantys detalesnį įvertinimą, priimant dėmesin būklės pagerėjimo trijų lygių gradaciją (bendro balų skaičiaus pagal ADHDRS-IV skalę sumažėjimą $< 25\%$, $25-49,9\%$ arba $\geq 50\%$ nuo foninės linijos) pateikti 17 lentelėje. Žymus pagerėjimas esant bendro balų skaičiaus 50 arba daugiau % sumažėjimui, lyginant su bazine linija, buvo pastebėtas 52-se % vaikų 9 grupėje, kurie priiminėjo anti-S100 + anti-eNOS ULD ir 34-se % vaikų 2 grupėje, kurie priiminėjo anti-S100 ULD (lyginant su 8% pacientų 3 grupėje, gavusių placebo).

Žymus klinikinių ADHD implikacijų sumažėjimas ($p < 0,001$) lyginant su pradine būsena atsirado jau po 2 gydymo savaičių visose trijose stebėjimo grupėse. Teigiama dinamika buvo reikšmingesnė 9 ir 2 grupės pacientams, kadangi dideli jų skirtumai buvo nustatyti tarp bendrų ADHDRS-IV-Home Version balų skaičiaus ne tik palyginus su atrinkimo vizitu, bet ir lyginant su 3 grupės rodikliais su placebo. Per paskesnes gydymo savaites gydymo anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija ir monokomponentiniu preparatu ULD-S100 efektyvumas pradėjo augti, daugiau aktyviojo vaisto grupėje ($p < 0,05$). Suminis bendro balų skaičiaus ADHDRS-IV-Home Version skalėje sumažėjimas 9 grupės vaikams, gavusiems anti-S100 + anti-eNOS ULD, buvo 16,5 taškų, 2 grupės pacientams, gavusiems anti-S100 ULD – 12,4 taškų (lyginant su 6,3 taško 3-je grupėje su placebo). Per 12 savaičių gydymą vaikų, gydytų anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija, klinikinių ADHD implikacijų intensyvumas sumažėjo beveik per pusę ($-48,8\%$), o pacientų, gydytų anti-S100 ULD – daugiau nei trečdaliu ($-32,2\%$) lyginant su bazine linija.

Anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos arba anti-S100 ULD priėmimas turėjo įtakos abiem ADHD simptomų klasteriams, kas buvo patvirtinta vertinimų dinamika pagal dvi ADHDRS-IV-Home Version dalis. Be to, gydymo anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija efektyvumas buvo žymiai didesnis nei gydymo monopreparatu anti-S100 pagal įtakos į implikacijų intensyvumo laipsnį ir dėmesio stoką bei hiperaktyvumą/impulsyvumą.

Aktyviojo vaisto anti-S100 + anti-eNOS ULD ir palyginamojo vaisto ULD-S100 teigiamas terapinis poveikis buvo parodytas vertinant pacientų gydymo rezultatus pagal ADHD sunkumo vertinimo skalę (CGI-ADHD-Severity) (17 lentelė). Beveik ketvirtadalio pacientų anti-S100 + anti-eNOS ULD grupėje ligos sunkumas buvo sumažintas nuo vidutinio iki nedidelio ir netgi iki minimalaus, ką patvirtina vidutinės reikšmės CGI-ADHD-Severity skalėje sumažėjimas 15% po 3 mėnesių gydymo (nuo $4,0 \pm 0,02$ iki $3,4 \pm 0,06$; $p < 0,001$). Gydymo monopreparatu anti-S100 ULD efektyvumas per 3 mėnesius buvo šiek tiek mažesnis ir sudarė -10% CGI-ADHD-Severity skalėje (palyginus su 5% placebo grupėje).

Saugumo analizėje buvo imti visų tyrime dalyvaujančių pacientų duomenys. Per visą kontroliavimo laiką ir aktyviojo vaisto anti-S100 + anti-eNOS ULD, ir palyginamojo preparato ULD-S100 toleravimas sutapo su placebo toleravimu. Šalutiniai poveikiai buvo užregistruoti vienam pacientui anti-S100 ULD grupėje (per keturias savaites nurimo galvos skausmas) ir vienam placebo grupėje (lunatizmas antro stebėjimo mėnesio metu). Šie šalutiniai poveikiai nebuvo susiję su gydymu. Be to, gydymo metu buvo stebimi atskiri ūmios respiratorinės ligos atvejai, kurie taip pat nėra susiję su gydymu. Visi tyrimo grupių pacientai užbaigė tyrimą pagal tyrimo protokole numatytą planą; ankstyvų iškritimų nebuvo. Patologinių pokyčių pagal pacientų fizinę apžiūrą ir pakartotinų laboratorinių parametrų analizę nebuvimas rodo tirtojo gydymo saugumą.

Pagal fizinės apžiūros rezultatus (širdies susitraukimų dažnis, SBP, DBP, kūno temperatūra) gydymo laikotarpiu pacientams nebuvo užregistruota jokių patologinių pakitimų. Skirtumai analizuojant rodiklius pagal vizitus ir lyginamosiose grupėse nepasiekė statistinio reikšmingumo ir neviršijo fiziologiškai leistinų nukrypimų ribų. Dideli terapijos priimtinumą rodikliai papildomai liudija tiek apie tirtųjų preparatų efektyvumą, tiek ir apie saugumą. Trečiojo gydymo mėnesio gale gydymo priimtumas 9 grupėje su anti-S100 + anti-eNOS ULD ir 2 grupėje su anti-S100 ULD buvo atitinkamai $99,8 \pm 1,15\%$ ir $98,8 \pm 2,25\%$ (lyginant su $74,6 \pm 2,54\%$ 3 grupėje su placebo).

Tokiu būdu, tyrimas parodė anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicijos ir monokomponentinio preparato ULD-S100 veiksmingumą, gydant vaikus su ADHD. Labiausiai išreikštas terapinis poveikis 12 savaičių eigoje buvo stebėtas kompleksinio vaisto (anti-S100 + anti-eNOS ULD) atveju, ką aiškiai parodė teigiama klinikinių simptomų dinamika daugumai (75%) vaikų. Anti-S100 + anti-eNOS ULD kompozicija turėjo korekcinę

įtaką į abu ADHD simptomų klasterius, ir dėl to buvo pastebėtas aiškus pacientų su ADHD dėmesio sutrikimų ir hiperaktyvumo sumažėjimas.

17 lentelė

Bendro balų skaičiaus pagal ADHDRS-Home Version skalę dinamika 12 gydymo savaičių pabaigoje

Pacientų grupės	Pacientų su sumažinto bendro balų skaičiaus pagal ADHDRS-IV-Home Version skalę dalis		
	Mažiau nei 25.0% nuo bazinės linijos	25.0 – 49.9% nuo bazinės linijos	50.0% ir daugiau nuo bazinės linijos
anti-S100 + anti-eNOS ULD, n=48	12 (25%)	11 (23%)	25 (52%) ^{##}
anti - S100 ULD, n=50	17 (34%)	16 (32%)	17 (34%) ^{##}
Placebas, n=50	22 (44%)	24 (48%)	4 (8%)

Skirtumas yra reikšmingas, lyginant su placebo grupe: ^{##} p<0.01.

18 lentelė

ADHD pagal ADHDRS-IV-Home Version skalę klininių implikacijų požymių dinamika

Gydymo stadija	anti-S100 + anti-eNOS ULD, n=48		Anti-S100 ULD, n=50		Placebas, n=50	
	Reikšmė (Vid±SN)	Δ nuo bazinės linijos	Reikšmė (Vid±SN)	Δ nuo bazinės linijos	Reikšmė (Vid±SN)	Δ nuo bazinės linijos
Bendras balų skaičius						
Atrinkimas	33,8 ±0,96		32,5 ± 1,14		33,6 ± 0,91	
2 savaitės	24,1 ±0,97 *** #	-28,7%	25,1 ± 1,03 *** #	-22,8%	28,8 ± 1,26 ***	-14,3%
4 savaitės	22,6 ±0,98 *** ##	-33,1%	22,7 ± 1,23 *** ##	-30,2%	29,9 ± 1,06 ***	-11,0%
6 savaitės	19,4 ±0,95 *** ##	-42,6%	20,8 ± 1,06 *** ##	-36,0%	29,0 ± 1,25 ***	-13,7%
8 savaitės	18,9 ±0,94 *** ###	-44,1%	20,9 ± 1,30 *** ###	-35,7%	27,6 ± 1,35 ***	-17,9%
12 savaičių	17,3	-48,8%	20,1	-38,2%	27,3	-18,8%

	$\pm 0,96$ *** # ## &		$\pm 1,21$ *** ###		$\pm 1,48$ ***	
Dėmesio sutrikimai						
Atrinkimas	18,4 $\pm 0,55$		17,4 $\pm 0,57$		18,4 $\pm 0,43$	
2 savaitės	12,8 $\pm 0,57$ *** #	-30,4%	13,7 $\pm 0,68$ *** #	-21,3%	16,1 $\pm 0,66$ ***	-12,5%
4 savaitės	11,6 $\pm 0,56$ *** ###	-37,0%	12,9 $\pm 0,79$ *** ###	-25,9%	16,4 $\pm 0,57$ ***	-10,9%
6 savaitės	10,7 $\pm 0,54$ *** ###	-41,8%	11,9 $\pm 0,64$ *** ###	-31,6%	16,0 $\pm$ 0,70 ***	-13,0%
8 savaitės	10,3 $\pm 0,53$ *** ###	-44,0%	11,5 $\pm 0,70$ *** ###	-33,9%	15,1 $\pm 0,76$ ***	-17,9%
12 savaitių	9,7 $\pm 0,55$ *** # # &	-47,3%	11,4 $\pm 0,68$ *** #	-34,5%	14,9 $\pm 0,78$ ***	-19,0%
Hiperaktyvumas /Impulsyvumas						
Atrinkimas	15,4 $\pm 0,61$		15,1 $\pm 0,77$		15,2 $\pm 0,62$	
2 savaitės	11,3 $\pm 0,63$ ***	-26,6%	11,4 $\pm 0,61$ ***	-24,5%	12,7 $\pm 0,74$ ***	-16,4%
4 savaitės	11,0 $\pm 0,62$ *** ###	-28,6%	9,8 $\pm 0,64$ *** ###	-35,1%	13,5 $\pm 0,67$ **	-11,2%
6 savaitės	8,7 $\pm 0,59$ *** ##	-43,5%	8,9 $\pm 0,64$ *** ###	-41,1%	12,9 $\pm 0,73$ **	-15,1%
8 savaitės	8,6 $\pm 0,60$ *** ##	-44,2%	9,5 $\pm 0,76$ *** #	-37,1%	12,5 $\pm 0,81$ ***	-17,8%
12 savaitių	7,6 $\pm 0,57$ *** ### &	-50,6%	8,7 $\pm 0,70$ *** ###	-42,4%	12,5 $\pm 0,82$ ***	-17,8%

Pastaba: Skirtumas yra reikšmingas lyginant su bazinės linijos parametru:

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Skirtumas yra reikšmingas lyginant su placebo grupe:

$p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$.

Skirtumas yra reikšmingas lyginant su anti-S100 ULD grupe:

& $p < 0,05$.

19 lentelė

ADHD sunkumo laipsnio pagal CGI-ADHD-Severity skalę dinamika

Parametras		
	ADHD sunkumas	
	Vid±SD	Δ nuo bazinės linijos
anti-S100 + anti-eNOS ULD, n=48		
Atrinkimas	4,0±0,02	
4 savaitės	3,6±0,02**	-10%
12 savaičių	3,4±0,06***	-15%
anti-S100 ULD, n=50		
Atrinkimas	4,0±0,03	
4 savaitės	3,8±0,06**	-5%
12 savaičių	3,6±0,08***	-10%
Placebas, n=50		
Atrinkimas	4,0±0,01	
4 savaitės	3,9±0,05	-2,5%
12 savaičių	3,8±0,06***	-2,5%

Skirtumas yra reikšmingas lyginant su bazinės linijos parametru:

** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$,

12 pavyzdys

Dvigubai aklas, placebo kontroliuojamas antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą aktyvuotų potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje derinio su antikūnų prieš endotelinę NO- sintazę aktyvuota potencijuota forma homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje klinikinis tyrimas su žmonėmis-pacientais, turinčiais lėtinį širdies nepakankamumą, pagrindiniams CHF patologijos parametrams įvertinti.

80 pacientų (II-IV funkcinės klasės (FC) CHF, kairiojo skilvelio išmetimo dalis (LVEF) mažiau nei 40%) buvo padalinti į 4 lygias gydymo ir kontrolines grupes 6 mėnesių trukmės tyrimui. Foninis gydymas nebuvo nutrauktas (bisproolio β-blokatorius, ACE inhibitorius enaprilis, aspirinas (jeigu nėra kontraindikacijų); taip pat buvo leista skirti diuretikus, nitratus, digoksina). 1 grupė gavo antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą aktyvuotą potencijuotą formą (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinį) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 2 grupė gavo antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotą potencijuotą formą (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200

mišinį) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 3 grupė gavo farmacinę kompoziciją-derinį, susidedantį iš antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptorius C-galinį fragmentą aktyvuotos potencijuotos formos (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) ir antikūnų prieš endotelinę NO- sintazę aktyvuotos potencijuotos formos (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 4 grupė gavo placebo (3 tabletės/per dieną, n = 20). Grupių pradiniai tyrimų parametrai buvo panašūs: amžius ir lytis, ligos sunkumas (CHF klasė ir LVEF) ir trukmė.

Prieš ir po gydymo buvo vertinamas pacientams skirtų vaistų poveikis į kraujagyslių pasikeitimą ir endotelio funkcijos sutrikimą, kas yra svarbu CHF procesui ir progresavimui. Vaistų poveikis į kraujagyslių pasikeitimą buvo vertinamas pagal pulso bangos greitį (PWV) ("Colson" sistema) karotidiniame-femoraliniame (CF) (elastinio tipo) ir karotidiniame-radialiniame (CR) (raumens tipo) arterijų segmentuose.

20 lentelėje parodyta pulso bangos greičio karotidiniame-femoraliniame (CF) (elastinio tipo) ir karotidiniame-radialiniame (CR) (raumens tipo) arterijų segmentuose rodiklių dinamika.

20 lentelė

Grupė/ Parametras	Angiotenzino II AT1 receptorius C- galinio fragmento AB ¹ ULD ²			Endotelinės NO- sintazės AB ULD			Angiotenzino II AT1 receptorius C- galinio fragmento AB ULD ir endotelinės NO- sintazės AB ULD derinys			Placebas		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
CF, m/c	9,7± 0,5	8± 0,6	- 14,8*	10, 1±0 ,5	9,8± 0,4	-2,97	10,8± 0,3	8,6 ± 0,6	-20,3*	8,2 ±0,4	8,2± 0,5	0,1
CR, m/c	8,6± 0,2	8,9± 0,3	2,9	8,8 ± 0,1	8,3± 0,3	-5,7	8,9± 0,5	7,6 ± 0,7	-15,6* #\$	9,1 ±0,3	9,7± 0,3	6,4*

(^) žymi pradinę reikšmę.

(&) žymi 6 mėn. nuo vaisto vartojimo pradžios.

(*) žymi skirtumą nuo pradinės reikšmės, kuris yra patikimas, o jo p reikšmė yra < 0.05.

(#) žymi skirtumą nuo grupės, gavusios AB prieš angiotenzino II AT1 receptorius C-galinį fragmentą ULD, kuris yra patikimas ir jo p reikšmė yra < 0.05.

(\$) žymi skirtumą nuo grupės, gavusios AB prieš endotelinę NO-sintazę ULD, kuris yra patikimas, o jo p reikšmė yra < 0.05.

(1) AB žymi antikūnus.

(2) ULD žymi ultra-mažas dozes.

Po 6 mėnesių gydymo tik 3 grupė parodė įrodomą farmacinės kompozicijos pagal šį išradimą poveikį į raumeninio tipo arterijų nelankstumą. 1 grupė, kuri gavo antikūnų prieš angiotenzino II AT-1 receptoriaus C-galinį fragmentą ULD, ir 3 grupė, kuri gavo šio išradimo farmacinę kompoziciją-derinį, parodė įrodomą poveikį į elastinio tipo arterijų nelankstumą.

13 pavyzdys

Dvigubai aklas, placebo kontroliuojamas antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą aktyvuotų potencijuotų formų homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje derinio su antikūnų prieš endotelinę NO- sintazę aktyvuota potencijuota forma homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinyje klinikinis tyrimas su žmonėmis-pacientais, turinčiais lėtinį širdies nepakankamumą, svarbiausiam gyvenimo kokybės matavimui įvertinti.

80 pacientų (II-IV funkcinės klasės (FC) CHF, kairiojo skilvelio išmetimo dalis (LVEF)) mažiau nei 40%) buvo padalinta į 4 lygias gydymo ir kontrolines grupes 6 mėnesių trukmės tyrimui. Foninis gydymas nebuvo nutrauktas (bisproolio β -blokatorius, ACE inhibitorius enaprilis, aspirinas (jeigu nėra kontraindikacijų); taip pat buvo leista skirti diuretikus, nitratus, digoksina). 1 grupė gavo antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą aktyvuotą potencijuotą formą (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinį) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 2 grupė gavo antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotą potencijuotą formą (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinį) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 3 grupė gavo farmacinę kompoziciją-derinį, susidedantį iš antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą aktyvuotos potencijuotos formos (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) ir antikūnų prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuotos potencijuotos formos (homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišinys) (3 tabletės/per dieną, n = 20). 4 grupė gavo placebo (3 tabletės/per dieną, n = 20). Grupių pradiniai tyrimų parametrai buvo panašūs: amžius ir lytis, ligos sunkumas (CHF klasė ir LVEF) ir trukmė. Prieš gydymą ir po jo buvo vertinama pacientų gyvenimo kokybė (Minnesota ir Kansas klausimynai), širdies morfologiniai parametrai ir fizinių pratimų toleravimas.

3 lentelėje parodyti tyrimo rezultatai pagrindinių gydymo efektyvumo parametrų dinamikos pavidalu.

Po 6 mėnesių gydymo 1 grupės pacientų, gydytų antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą ULD, gyvenimo kokybė žymiai pagerėjo (kairiojo skilvelio sistolinės funkcijos pagerėjimas ir padidjęs fizinių pratimų toleravimas). 2 grupėje buvo stebimas įrodytas nerimo ir depresijos lygio sumažėjimas ir gyvenimo kokybė, kurie buvo įvertinti naudojant Kansas klausimyną. Tyrimas patvirtino, kad maksimalus terapinis poveikis buvo gautas su šio išradimo farmacine kompozicija-deriniu (kombinuojant su įprasta CHF terapija), kuris buvo skiriamas 3 grupės pacientams, kurie rodė teigiamą visų tirtųjų parametrų dinamiką.

Antikūnų prieš angiotenzino II AT 1-receptoriaus C-galinį fragmentą ir prieš endotelinę azoto oksido sintazę (NO-sintazę) aktyvuotų (potencijuotų) formų derinys šio išradimo farmacinėje kompozicijoje (kombinuotas vaistas) turi netikėtą sinerginį terapinį poveikį, reiškiantį sustiprintą poveikį į kraujagyslių rekonstravimą ir endotelio funkcijos sutrikimą, kurie yra svarbiausi CHF eigai ir jo progresavimui, ir taip pat į pacientų gyvenimo kokybės pagerėjimą, į širdies morfologinius parametrus ir fizinių pratimų toleravimą, ką ir patvirtina klinikiniai tyrimai.

Rezultatai yra pateikti toliau duodamoje 21 lentelėje.

21 lentelė

Grupė/ parametras	Angiotenzino II AT1 receptoriaus C- galinio fragmento AB ¹ ULD ²			Endotelinės NO- sintazės AB ULD			Angiotenzino II AT1 receptoriaus C-galinio fragmento AB ULD ir endotelinės NO-sintazės AB ULD derinys			Placebas		
	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%	^	&	Δ%
Minnesota ³	47,5 ± 2,8	39,1 ±3,8 **	- 17,6	48,1 ± 3,7	40,8 ± 3,8	- 15,2	43,9 ± 2,8	32,0± 4,9 ***\$	- 27,1	48,3± 3,7	42,4± 2,9 **	- 12,2
Kansas ⁴	82,1 ± 2,3	70,1 ±5,5 ***	- 14,6	81,5 ±2,5	72,0 ±8,2 *	- 11,7	87,7 ± 2,3	65,7± 7,3 ***\$	- 25,1	83,8± 3,5	60,3± 6,8	- 7,2
HADS ⁵	15,3 ± 1,0	12,5 ±0,9 **	- 18,5	16,2 ±1,7	11,34 ±2,1 ***	- 30,3	16,2 ± 1,3	8,4±0,9 *** # \$\$	- 48,1	17,3± 1,1	15,9± 1,1	- 8,1

FC CHF ⁶	2,7± 0,1	2,2± 0,1* **	- 17,3	2,9± 0,1	2,7± 0,2	- 7,3	3,0 ± 0,2	1,9±0,1 *** # \$	- 36,6	2,7± 0,1	2,5± 0,1	- 6,2
FF LV ⁷	27,1 ± 0,9	33,6 ±1,5 **	24,0	28,2 ±1,5	25,3 ±1,7	10,3	25,3 ± 1,1	34,6±1, 9 *** # \$	36,7	26,4± 1,1	28,0± 1,4	6,3
6 minučių ėjimo testas	378,7 ± 12,4	419,6 ± 13,7 ***	10,8	383,1 ± 15,3	416,8 ± 17,2	8,8	378, 7 ± 12,4	450,1 ±17,7** # \$	18,9	390,5 ± 11,9	409,1 ±11,5	4,8

*, **, *** - p reikšmės atitinkamai < 0,05, 0,01 ir 0,001

#- skirtumas nuo grupės, gavusios AB prieš angiotenzinoreceptoriaus II C-galinį fragmentą ULD, kuris yra patikimas ir turi p reikšmę < 0,05

\$, \$\$ - skirtumas nuo grupės, gavusios AB prieš endotelinę NO-sintazę ULD, kuris yra patikimas ir turi p reikšmę atitinkamai 0,05 ir 0,01.

- (1) AB reiškia antikūnus
- (2) ULD reiškia ultramažas dozes
- (3) "Minnesota" žymi Minnesota Questionnaire
- (4) "Kansas" žymi Kansas Questionnaire
- (5) HADS žymi HADS bendrą balų skaičių
- (6) FC CHF žymi pacientus su lėtiniu širdies nepakankamumu, funkcinę klasę
- (7) FF LV žymi kairiojo skilvelio funkcionavimo dalį.

14 pavyzdys

Norint ištirti pasiūlytos farmacinės kompozicijos savybes gydyti pacientams su gerybine prostatos hiperplazija, buvo naudojamos 300 mg piliulės, prisotintos farmacinės kompozicijos, turinčios aktyvuotų-potencijuotų triušio polikloninių antikūnų prieš prostatos specifinį antigeną (anti-PSA), išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu, ir prieš endotelinę NO-sintazę (anti-eNOS) ultramažas dozes (ULD), gautas panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100¹², 100³⁰, 100²⁰⁰ kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui (anti-PSA + anti-eNOS ULD), vandeniniu alkoholiniu tirpalu (6 mg/piliulei), ir 300 mg piliulės, prisotintos farmacinės kompozicijos, turinčios aktyvuotų-potencijuotų triušio polikloninių antikūnų prieš prostatos specifinį antigeną (anti-PSA), išgrynintų giminingumo chromatografijos būdu, ultramažas

dozes (ULD), gautas panaudojant pradinio matricinio tirpalo superpraskiedimą 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} kartų, ekvivalentišką 100-kartinių homeopatinių praskiedimų C12, C30, C200 mišiniui (anti-PSA ULD), vandeniniu alkoholiniu tirpalu (3 mg/piliulei).

Gerybinė prostatos hiperplazija (BPH) yra vienas iš vyrams dažniausiai atsirandančių sutrikimų (Bruskewitz R.C., 2003; Rosen R., 2003): viena vertus, Rusijoje atlikti epidemiologiniai tyrimai rodo laipsniškai didėjantį BPH dažnumą nuo 11,3% 40-49 metų amžiaus iki 81,4% 80 metų amžiaus vyrams ((Gorilovskiy, L.M., 1999); antra vertus, demografiniai tyrimai, kuriuos atliko PSO, patvirtina ryškiai didėjantį skaičių gyventojų virš 60 metų amžiaus, pralenkiantį augimą bet kokioje kitoje amžiaus grupėje.

Pagrindiniai gerybinės prostatos hiperplazijos simptomai yra apatinio šlapimo trakto simptomai, kurie sukelia didelį diskomfortą ir gyvenimo kokybės pablogėjimą (Bruskewitz R.C., 2003; Lepor H., 2004; O'Leary M.P., 2005). Sunkiais atvejais šią ligą gali lydėti komplikacijos, tokios kaip ūmus šlapimo susilaikymas, šlapimo trakto infekcija, eritrurija, inkstų susilpnėjimas (Stepanov, V.N., 1999; Jacobsen S.J., 1997; Lepor H., 2004). BPH yra taip pat susijusi su pacientų erekcinės funkcijos sutrikimo atsiradimu (Bruskewitz R.C., 2003; Daly MP, 2005).

Į atviro žymėjimo, palyginimo su lygiagrečia grupe farmacinių kompozicijų, turinčių anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD, efektyvumo ir saugumo tyrimą dėl šlapinimosi pakenkimų, sukeltų prostatos gerybinės hiperplazijos (BPH), pagerinimo buvo įtraukta 40 pacientų, atrinktų pagal įtraukimo/atmetimo kriterijus. Pacientai buvo atsitiktinai paskirstyti į 2 grupes – viena grupė gavo po 1 piliulę 3 kartus per dieną 12 savaičių ($n = 21$) anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD, kita grupė - po 1 piliulę 3 kartus per dieną 12 savaičių ($n = 19$) anti-PSA ULD. Grupės buvo maždaug vienodos pagal amžių, BPH simptomų sunkumą, šlapinimosi parametrus ir prostatos tūrį.

Tyrimo dalyvavo pacientai apie 45 metų amžiaus su BPH istorija su atitinkamais apatinio šlapimo trakto simptomais ne mažiau nei 6 mėnesius, IPSS ≥ 13 , prostatos tūris pagal transrektalinę ultrasonografiją $\geq 30 \text{ cm}^3$, su maksimaliu šlapimo tekėjimo laiku $\geq 4 \text{ ml/s}$ ir $\leq 15 \text{ ml/s}$, ir minimaliu likusio šlapimo tūriu lygiu 125 ml, su PSA lygiu $\leq 4 \text{ ng/ml}$. Būtinai įtraukimo kriterijus buvo nebuvimas ligos istorijoje tokių vaistų: finasterido, dutasterido arba kito eksperimentinio vaisto 6 mėnesius prieš įtraukimą į tyrimą, α 1-adrenoreceptorius blokatorių ir augalinių vaistų 4 savaites prieš įtraukimą į tyrimą, kokių nors 5 tipo

fosfodiesterazės inhibitorių ir kitokio erekcinės funkcijos sutrikimo gydymo 4 savaites prieš įtraukimą į šį tyrimą.

Į tyrimą nebuvo įtraukti pacientai, kuriems buvo naudoti invaziniai BPH gydymo metodai, įskaitant transuretrinę prostatos rezekciją, termoterapiją, transuretrinę adatinę abliaciją, stentinę angioplastiką ir kitas; su piktybine onkologine liga, ūmiu šlapinimosi užlaikymu, akmenimis šlapimo pūslėje, šlaplės susiaurėjimu, Marion'o liga, urogenitalinės sistemos infekcijomis aktyvioje uždegimo fazėje ir kiti.

Klinikinis farmacinių kompozicijų efektyvumas buvo vertinamas pagal apatinio šlapimo trakto klinikinių simptomų pagerėjimą, įvertintų naudojant IPSS klausimyną (International Prostate Symptom Score), šlapinimosi parametrus (maksimalus ir vidutinis šlapimo srovės greitis, šlapimo tūris, liekamojo šlapimo tūris) ir prostatos tūris remiantis transuretiniu ultragarsu (TU), o erekcijos funkcija buvo įvertinta remiantis duomenimis, gautais iš IIEF klausimyno (International Index of Erectile Function). Tyrimo rezultatai parodyti 22 ir 23 lentelėse.

22 lentelė

	anti-PSA ULD				anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD			
	n/N (%) ¹	In., vid.	12 savai-čių., vid.	Δ, cp	n/N (%) ¹	In., vid.	12 savai-čių., vid.	Δ, cp
IPSS, balų skaičius	19/19 (100,0)	17,8	11,9	-5,9	20/21 (95,2)	16,0	10,5	-5,6
QoL/, balų skaičius (gyvenimo kokybė)	19/19 (100,0)	3,4	2,4	-1,0	20/21 (95,2)	3,4	2,3	-1,1
IIEF, balų skaičius	2/19 (10,5)	17,8	18,6	0,8	4/21 (19,0)	17,5	18,9	1,4
Qmax, ml/s (maksimalus šlapimo greitis)	16/19 (84,2)	10,8	13,1	2,2	15/21 (71,4)	11,7	13,7	2,0

Qvid, ml/s vidutinis šlapimo greitis)	15/19 (78,9)	5,8	7,1	1,3	18/21 (85,7)	5,8	7,1	1,3
V, ml (šlapinimosi tūris)	10/19 (52,6)	218,6	206,8	-11,8	15/21 (71,4)	203,7	252,0	48,3
RV, ml (liekamojo šlapimo tūris)	15-19 (78,9)	23,6	19,4	-4,3	14/21 (66,6)	19,1	14,1	-5,0
PV, cm ³ (prostatos tūris)	18/19 (94,7)	55,9	48,9	-7,0	15/21 (71,4)	57,0	52,4	-4,6

¹ – skaitiklyje yra pacientų, kuriems buvo stebimas pagerėjimas, skaičius (n), vardiklyje – bendras tyrime dalyvaujančių pacientų skaičius (N).

23 lentelė

Obstrukcinių ir dirginančių simptomų poskalės dinamika ir IPSS klausimyno 7 klausimas

	anti-PSA ULD		anti-PSA +anti-eNOS ULD	
	Vid.±SN 1 vizitas	Vid.±SN 2 vizitas	Vid.±SN 1 vizitas	Vid.±SN 2 vizitas
Obstrukcins	10,0±3,02#	6,5±2,81***	8,2±2,96	6,0±3,39**
Dirginimas	7,5±2,21&	5,3±1,90***	7,8±2,16&	4,5±2,34***
7 ^{as} klausimas	2,1±0,78	1,9±0,75	2,3±0,90	1,4±0,98***
Obstrukcija, % ²		-33,4±26,85		-25,2±34,50
Dirginimas, % ²		-28,2±1730		-40,3±30,35
7 ^{as} klausimas, % ²		-2,0±49,61##		-37,7±39,23

* - p<0.05 nuo bazinės linijos; ** - p<0.01 nuo bazinės linijos; *** - p<0.001 nuo bazinės linijos

- p<0,01 nuo anti-PSA ULD

² – rodo sumažėjimą lyginant su bazine linija, %, vidutinė grupės reikšmė.

Parodyti duomenys patvirtina, kad ir anti-PSA ULD, ir anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD panaudoti efektyviam apatinio šlapimo trakto simptomų gydymui, padidino vidutinį ir maksimalų šlapimo srovės greitį, pagerino pacientų gyvenimo kokybę. Gydymo kursas buvo neilgas (12 savaičių), todėl prostatos tūrio mažėjimo nebuvo pastebėta nei vienoje grupėje. Anti-PSA ULD neveikia šlapinimosi tūrio, kuris padidėjo tik 52,6% pacientų, pagal vidurkį grupėje stebėtas tam tikras statistiškai nereikšmingas šlapinimosi tūrio sumažėjimas 11,8 ml (5,4%) lyginant su bazinės linijos reikšmėmis. Tuo pačiu metu, pacientų gydytų anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD, šlapinimosi tūrio padidėjimas buvo 71,4%, o pagal vidurkį tūrio padidėjimas buvo 48,3 ml (23,7%) lyginant su bazine linija.

Obstrukcijos ir dirginimo simptomų dinamikos analizė pagal IPSS poskales o taip pat ir pagal šlapinimosi naktį dažnį (IPSS 7 klausimas) parodė, kad abi farmacinės kompozicijos turi įnašą į obstrukcijos ir dirginimo simptomų duomenis, o taip pat ir į šlapinimosi naktį simptomo sumažėjimą. Tuo pačiu metu, anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD, lyginant su anti-PSA ULD, efektyviau mažino apatinio šlapimo trakto dirginimo simptomus (28,2% lyginant su 40,3%, $p < 0,05$) ir šlapinimosi poreikį naktį (2,0% lyginant su 37,7%).

Reikia pažymėti, kad anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD, lyginant su anti-PSA ULD, taip pat efektyviau gerina pacientų erekcijos funkciją. Anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD pacientų grupėje bendras IIEF (International Index of Erectile Dysfunction) balų skaičius padidėjo 19% pacientų (anti-PSA ULD grupėje 10,5%), vidutinis IIEF balų skaičiaus padidėjimas anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD grupėje buvo 8% lyginant su 4,5% anti-eNOS ULD grupėje.

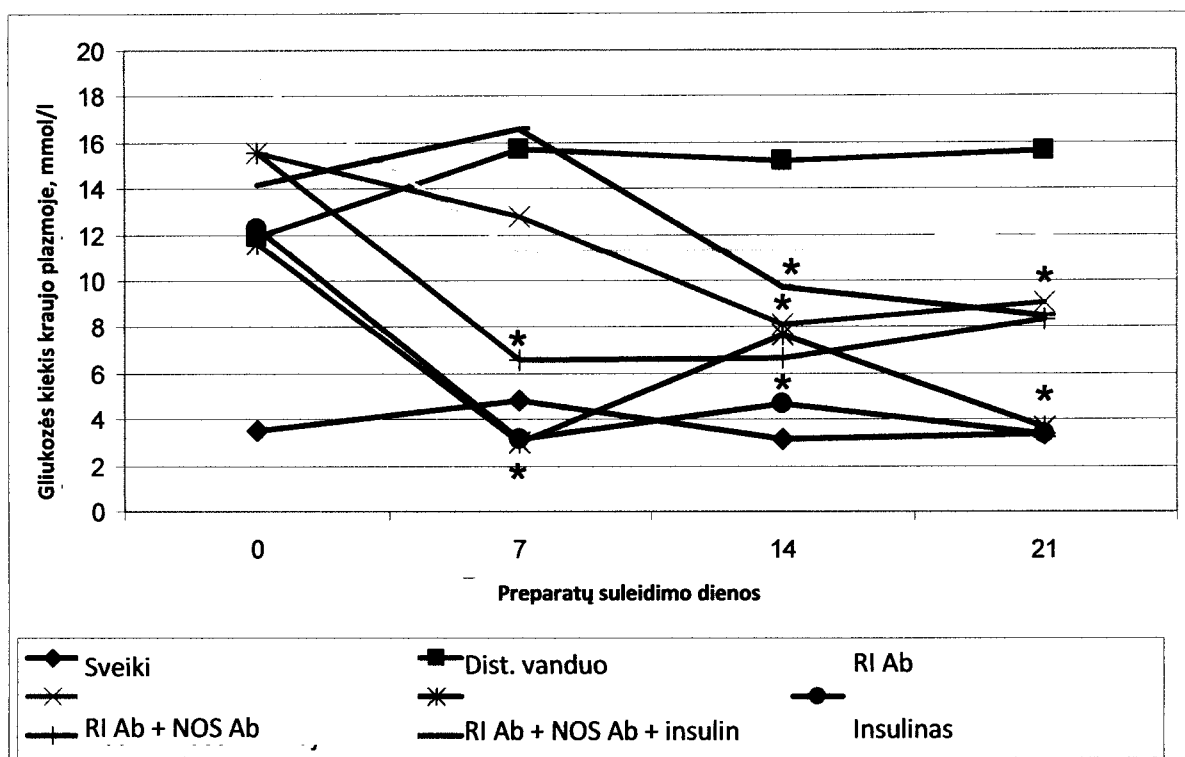
Farmacinės kompozicijos buvo labai saugios; tyrimo metu nebuvo pastebėta jokių su vaisto vartojimu susijusių kenksmingų poveikių.

Tokiu būdu, anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD rodė geresnį efektyvumą, lyginant su anti-PSA ULD, gydant gerybinę prostatos hiperplaziją. Be to, taip pat buvo parodyta, kad anti-PSA ULD + anti-eNOS ULD turi geresnį poveikį į pacientų erekcijos funkciją, lyginant su anti-PSA ULD.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

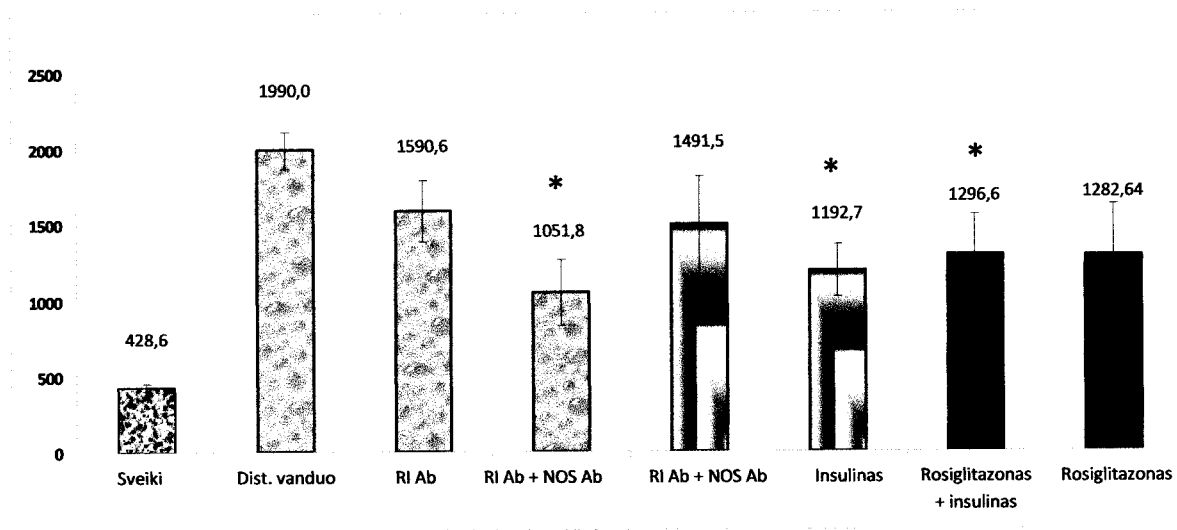
1. Farmacinė kompozicija, besiskirianti tuo, kad turi a) antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotą-potencijuotą formą ir b) antikūno prieš NO sintazę aktyvuotą-potencijuotą formą.
2. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad dar turi ir farmaciškai priimtina kietą nešiklį.
3. Farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuota-potencijuota forma yra C12, C30 ir C200 homeopatinių praskiedimų, impregnuotų ant minėto kieto nešiklio, formos.
4. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra monokloninis, polikloninis arba natūralus antikūnas.
5. Farmacinė kompozicija pagal 4 punktą, besiskirianti tuo, kad minėtas antikūnas prieš endogeninę biologinę molekulę yra polikloninis antikūnas.
6. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra pagaminta, panaudojant vienas po kito einančius praskiedimus, susietus su kiekvieno praskiedimo purtymu.
7. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad minėtas antikūnas prieš endotelinę NO-sintazę yra monokloninis, polikloninis arba natūralus antikūnas.
8. Farmacinė kompozicija pagal 7 punktą, kurioje minėtas antikūnas prieš endotelinę NO-sintazę yra polikloninis antikūnas.

9. Farmacinė kompozicija pagal 3 punktą, kurioje minėta antikūno prieš endotelinę NO-sintazę aktyvuota-potencijuota forma yra pagaminta, panaudojant vienas po kito einančius praskiedimus, susietus su kiekvieno praskiedimo purtymu.
10. Farmacinė kompozicija pagal vieną iš 1-9 punktų, skirta panaudoti antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotos-potencijuotos formos poveikiui padidinti.
11. Farmacinė kompozicija pagal 10 punktą, skirta panaudoti antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuotos-potencijuotos formos poveikiui padidinti pacientui, kuriam yra reikalingas gydymas minėta antikūno aktyvuota potencijuota forma.
12. Farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra antikūnas prieš S-100 baltymą.
13. Farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra antikūnas prieš prostatos specifinį antigeną.
14. Farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra antikūnas prieš insulino receptorių.
15. Farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta antikūno prieš endogeninę biologinę molekulę aktyvuota-potencijuota forma yra antikūnas prieš angiotenzino receptorių II.



* skirtumai yra statistiškai reikšmingi lyginant su kontrole (distiliuotas vanduo), $p < 0.05$

Fig. 1



* skirtumai yra statistiškai reikšmingi lyginant su kontrole (distiliuotas vanduo), $p < 0.05$

Fig. 2

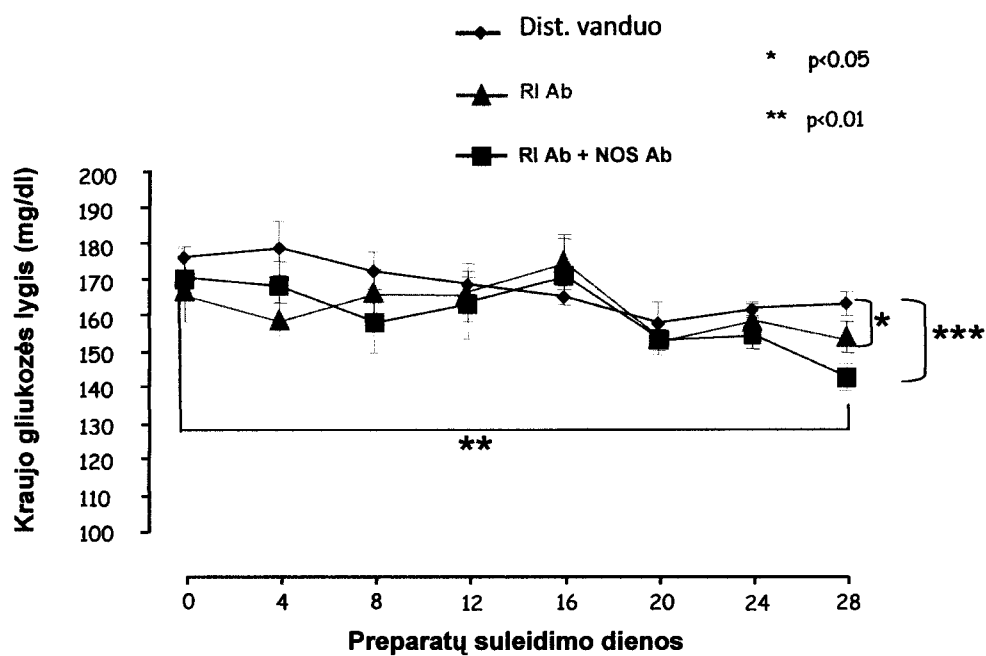


Fig. 3

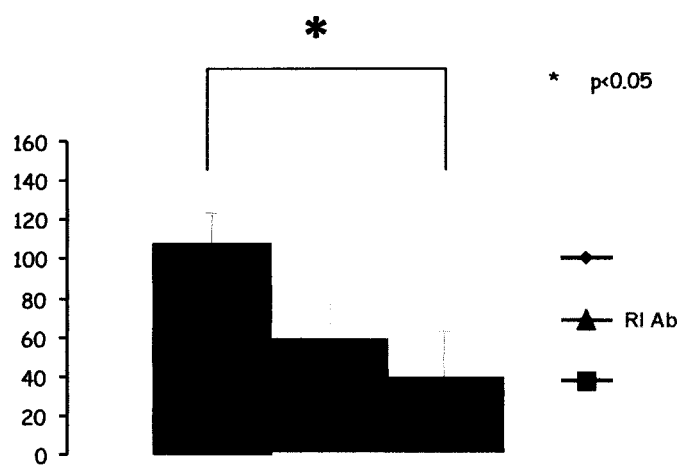


Fig. 4