

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 09.12.1998

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 12.12.1997

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1997/989447

(33) Země priority: US

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 15.11.2000
(Věstník č. 11/2000)

(86) PCT číslo: PCT/FI98/00954

(87) PCT číslo zveřejnění: WO99/30708

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 2138

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 31/41
A 61 K 31/435
A 61 K 31/5685
A 61 P 13/08
A 61 P 13/10

(71) Přihlašovatel:

HORMOS MEDICAL OY LTD., Turku, FI;

(72) Původce:

Santti Risto, Naantali, FI;
Talo Antti, Littoinen, FI;
Streng Tomi, Turku, FI;
Halonen Kaija, Rusko, FI;
Kangas Lauri, Raisio, FI;
Lammintausta Risto, Turku, FI;

(74) Zástupce:

Smola Josef Ing., Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití inhibitorů aromatasy při léčbě sníženého
poměru hladin androgenu k estrogeneru a
dyssynergie svalů vypuzovače a svěrače močové
trubice u člověka a způsob studia této
dyssynergie u sameček hlodavců**

(57) Anotace:

Použití inhibitorů aromatázy pro výrobu farmaceutické kompozice pro léčbu dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice u mužů, kde je dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice dysfunkcí způsobenou sníženým poměrem androgenů k estrogenům u pacienta, nebo sníženého poměru androgenu k estrogeneru u mužů. Dále se vynález také týká způsobu zkoumání vlivu určitých podmínek in vivo na močové funkce samců s použitím zvířecího modelu samců hlodavců. Snímá se elektrická aktivita svalů současně s tlakem v močovém měchýři a průtokem moči.

Použití inhibitorů aromatasy při léčbě sníženého poměru hladin androgenu k estrogeneru a dyssynergie svalů vypuzovače a svěrače močové trubice u člověka a způsob studia této dyssynergie u samečků hlodavců.

Oblast techniky

Vynález se týká použití inhibitorů aromatasy při léčbě sníženého poměru androgenu k estrogeneru (DATER). Vynález se také týká léčby dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice (DUSD) u člověka. Dále se vynález také týká způsobu studia specifických podmínek na urinární funkci samečků *in vivo* za použití zvířecího modelu samečků hlodavců.

Dosavadní stav techniky

Publikace a ostatní materiály zde použité k osvětlení stavu techniky a poskytnutí dodatečných podrobností s ohledem na praxi, jsou uvedeny ve formě odkazů.

Dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice (DUSD) a současné metody léčby

Normální vyprazdňování zahrnuje úmyslné uvolnění periuretrálního hladkého a příčně pruhovaného svalstva za současné kontrakce svalů vypuzovače (detrusoru). Anatomie spodního močového traktu je znázorněna na obr. 2 a to lidská (a) a krysí (b). Na tomto obrázku značí D sval vypuzovač (detrusor), U močovou trubici (urethra), RB příčně pruhovaný sval svěrače, PR prostatu, VPR břišní (ventrální) prostatu, LPR vedlejší (laterální) prostatu, S chánovou žlázu, C srážecí ucpávka a UR urogenitální přepážku. Nepřiměřená kontrakce nebo selhání úplného a postupného uvolnění svaloviny močového traktu v průběhu kontrakce vypuzovače způsobuje problémy s vyprazdňováním, známé jako dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice. O etiopatogenezi této dyssynergie je toho jen málo známo. Byly popsány tři různé klinické nálezy: 1) dyssynergie krčku měchýře; 2) pseudodyssynergie externího svěrače a 3) Hinmanův syndrom. Všechny tyto klinické nálezy jsou v tomto vynálezu označovány jako dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice.

Následuje souhrn klinických symptomů samčí funkční dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice a její léčby, zvláště pak s ohledem na hormonální pozadí symptomů.

Podle posledních studií (Kaplan a kol. 1996) je u poloviny mužů, mladších 50 let, trpících dráždivými a/nebo obstrukčními vyprazdňovacími obtížemi toto způsobeno obstrukcí výstupu močového měchýře (dyssynergie krčku močového měchýře) a u každého čtvrtého pacienta se tato obstrukce nachází na membránové močové trubici (nazýváno pseudodyssynergie vnějšího svěrače).

Dyssynergie krčku močového měchýře

Pacient trpící dyssynergií krčku močového měchýře je muž mezi 20 a 60 rokem života. Dyssynergie krčku močového měchýře je obvykle záležitostí věku a kondice. Toto onemocnění se prakticky nikdy nevyskytuje u žen. Jak zvětšení prostaty, tak dyssynergie krčku močového měchýře jsou ve vyšším věku obvyklé, proto jejich koincidence není v žádném případě neobvyklá.

Mezi symptomy dyssynergie krčku močového měchýře patří váhavost, slabý proud moče, závěrečné odkapávání a neúplné vyprázdnění močového měchýře (Prostatic Obstruction. Pathogenesis and treatment. Editor Christopher R. Chapple, Springer-Verlag 1994). U dyssynergie krčku močového měchýře je třeba vyššího vnějšího tlaku na močový měchýř, aby se tento vyprázdnil. V počátečním stádiu není omezen tok, protože zvýšený výtokový odpor je kompenzován maximálním tlakem močení. Pacienti s dyssynergií krčku močového měchýře si mohou vyvinout druhotnou nestabilitu vypuzovače s dráždivými symptomy k častému nucení a nokturii.

Při dyssynergii krčku močového měchýře se při vyprazdňování aktivně zužuje počáteční část močové trubice. Vlákná hladkého svalstva v počáteční části krčku močového měchýře mužů jsou morfologickým prodloužením cholinergně inervovaných vláken vypuzovače. Vlákná hladké svaloviny vzdálenějších částí krčku močového měchýře mužů jsou morfologicky odlišné od vláken vypuzovače a vyznačují se α -adrenergní inervací. Je možné, že v nefunkčním krčku močového měchýře mají vlákná hladké svaloviny odlišné složení, respektive uspořádání. Nemohou být také vyloučeny změny ve schopnosti kontrakce, nebo v reakci hladké svaloviny. Vliv hyperplasie nebo hypertrofie buněk hladké svaloviny na vývoj dysfunkce u mužů nebyl dostatečně prokázán.

Dyssynergie krčku močového měchýře může být léčena chirurgicky, přeríznutím svaloviny krčku močového měchýře v celé její tloušťce. Selektivní antagonisté $\alpha 1$ -adrenoreceptorů, jako jsou prazosin a indoramin, inhibují sympatetický tonus o němž se předpokládá, že zvětšuje stupeň sevření močové trubice při kontrakci hladké svaloviny močové trubice. Jsou používány jako doplňky při symptomatické léčbě funkční obstrukce močové trubice. Uroselectivní $\alpha 1$ -antagonisté s vysokou tkáňovou selektivitou vůči hladké svalovině spodní části močového traktu, které nevyvolávají hypotensní vedlejší účinky jsou ve stádiu vývoje.

Pseudodyssynergie vnějšího svěrače.

Vyšší vyprazdňovací tlak či nižší průtok nemusí být nezbytně způsobeny strukturní nebo funkční změnou komponentů hladkého svalstva spodní části močového traktu. Distální, prostatická část močové trubice má hladkou svalovinu, která se slučuje se svalovinou prostaty. Z kaudální strany k prostatě je na močové trubici vrstva příčně pruhované svaloviny, která se nazývá rhabdosphincter, svěrač močové trubice, nebo vnější svěrač. Příčně pruhovaný sval prostupuje celou délkou močové roury před penisem (Oelrich 1980). Proximální část svěrače leží jako svazek mezi základnou močového měchýře a proximálním krajem prostaty. Vlákna v centrální části svěrače kryjí boční plochu prostaty. Kaudálně k prostatě tvoří příčně pruhovaný sval konfiguraci podobnou koňskému kopytu (Strasse a kol. 1996). Pod pánevní přepážkou se svěrač (vnější svěrač) zvětšuje a vyplňuje prostor mezi stytkými kanály (Oelrich 1980). Lidský svěrač není rozdělen a nebyla identifikována žádná přepážka z hladké svaloviny, která by jej rozdělovala.

V průběhu normálního močového cyklu se spojuje vzrůst elektromotorické aktivity vnějšího svěrače s plněním močového měchýře (kontinenční reflex). Následuje uvolnění svěrače močové trubice a svalů pánevního dna. Toto nastává před nebo na začátku kontrakce vypuzovače a tento stav je udržován po dobu kontrakce. Dyssynergie vnějšího svěrače je definována jako nevhodné zvýšení aktivity příčně pruhovaného svalu na močové trubici (vnějšího svěrače močové trubice) v průběhu kontrakce vypuzovače a je dobře diagnostikovatelným důvodem dysfunkce vyprazdňování u pacientů s lézemi vnějších neuronů. Tato kompenzace se objevuje jako protiakce zvýšeného tlaku v močovém měchýři způsobeného neinhibovanou kontrakcí vypuzovače (přehnaný kontinenční reflex) (Rudy a kol. 1988). Nejprekvapivější u všech pacientů trpících pseudodyssynergií je přítomnost kontrakce příčně pruhovaného svalstva vnějšího svěrače močové trubice v průběhu vyprazdňování (Kaplan a kol. 1997). U dospělých může být etiologie pseudodyssynergie svěrače méně neurologická a více funkční, což je možné demonstrovat jako zúžení, nebo zastavení proudu moče při močení (Kaplan a kol. 1997). Muži, kteří mají spasmus pánevního dna, nebo to co Kaplan a kol. (1996) nazývá pseudodyssynergie, nemohou mít příliš zvýšen vyprazdňovací tlak. Avšak mají zúžen proud moče při vyprazdňování na úrovni membránové močové trubice.

Hinmanův syndrom.

Urodynamické studie u dětí s abnormálním projevem vyprazdňování prokázaly dyssyngii mezi vypuzovačem a příčně pruhovaným svěračem močové trubice i bez přítomnosti neurologického onemocnění (Hinman a Baumann, 1973). To se projevuje neúmyslnými, navyklými kontrakcemi příčně pruhovaného svěrače močové trubice jako odpověď na nevolnou



kontrakci močového měchýře za účelem zabránit inkontinenci moči. Tato dyssynergie pravděpodobně alespoň z části představuje naučený návyk. Je obvyklejší u děvčat, než u chlapců. Farmakologická manipulace vypuzovače a svěrače a terapie pomocí zpětné biologická vazby je velice úspěšná. Vztah mezi Hinmanovým syndromem a dyssynergií vypuzovače a svěrače nebo pseudodyssynergií svěrače močové trubice není znám.

Předpokladem je, že vývoj dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice je spojen s estrogeny respektive poměrem androgenů k estrogenům. Jak je známo, hormonální etiologie dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice či pseudodyssynergie svěrače močové trubice nebyla dosud navržena.

Snížený poměr androgenů k estrogenům

V průběhu a po menopauze zakouší starší ženy obvyklé postmenopauzální syndromy. U mužů nejsou hormonální změny tak dramatické jako u žen, ale v poslední době byla věnována pozornost andropauze.

Nejméně tři skupiny mužů jsou vystaveny vysokým hladinám estrogenů a mají relativní nedostatek androgenů. Jedna skupina zahrnuje syny matek, kterým byl podáván diethylstilbesterol (DES) k zabránění hrozícího potratu a gynekomastičtí chlapci, jejichž tuková tkáň je zdrojem estrogenů a kteří mohou být vystaveni působení estrogenů po celou dobu života, nebo starší muži s nadváhou jejichž nízké fyzické aktivity dovolí akumulaci tukové tkáně produkující vysoké hladiny estrogenů. Další skupinou jsou starší muži, kteří byli vystaveni estrogenům z prostředí a muži držící dietu s vysokým obsahem tuků a nízkým obsahem vlákniny. Relativní nedostatek androgenů je obvyklým znakem obézních starších mužů. Rozšíření nedostatku androgenů dosahuje 20% mužů od 60 do 80 let a 35% mužů starších 80 let. Na rozdíl od výrazných symptomů u žen se andropauza rozvíjí pomalu a její příznaky mohou být lehce nerozpoznány.

Teoreticky může být DETER léčen testosteronem. Testosteron je však v těle přeměněn na estrogen enzymem aromatasou. Dlouhodobý účinek se tedy může projevit sníženou endogenní produkcí androgenů a současně zvýšením poměru androgenů k estrogenům. Vysoké dávky testosteronu mohou proto způsobit hypogonadii a endokrinologický účinek, který odpovídá estrogenizaci. Neexistuje klinická metoda léčby DETER.

Možná role estrogenů při vývoji dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice; Receptory pro estrogeny a jejich funkce ve spodní části močového traktu pokusných zvířat a člověka

Přestože neexistují přímé důkazy popisující roli estrogenů při vývoji dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice, existují data podporující: 1. estrogeny zvyšují jednak

hustotu adrenergických receptorů, jednak adrenergně zprostředkovanou kontrakci hladkého svalstva močové trubice; a 2. estrogeny mění inervaci příčně pruhovaného svěrače močové trubice a svalů pánevního dna tím, že zabraňují androgeny indukované diferenciaci nebo udržováním struktur závislých na estrogenech; obě tyto funkce estrogenů mohou změnit funkci spodní části močového traktu a přispět k vývoji dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice.

Jako znamení citlivosti k estrogenům bylo prokázáno, že lidský močový měchýř a močová trubice obsahují stromální receptory estrogenů (ER). Koncentrace receptorů pro estrogeny v trigonu a na močovém měchýři je ve srovnání s receptory na močové trubici nižší (Iosif a kol. 1981). Navíc u žen je koncentrace vyšší ve střední a distální třetině močové trubice uvnitř pánve v porovnání s proximální částí močové trubice (Wilson a kol. 1984). To indikuje, že střední a distální část močové trubice jsou k estrogenům nejcitlivějšími částmi ženského močového traktu. Svaly a šlachy pánevního dna u žen také mají receptory pro estrogeny (Smith a kol. 1990).

Je známo, že estrogeny mohou ovlivnit odpověď močové trubice na alfa-adrenergní stimulaci. α -Adrenoreceptory hrají důležitou roli při udržování tlaku uvnitř močového traktu. U sexuálně vyspělého muže jsou tvořeny α -adrenergní receptory hlavně $\alpha 1$ -subtypem. $\alpha 1$ -Receptory jsou nerovnoměrně rozšířeny po délce mužské močové trubice (Yablonsky a kol. 1991). Nejvyšší hustota vazných míst pro ^3H -prazosin byla nalezena v preprostatické části močové trubice u psa. Vazná místa byla nalezena na vláknech hladkých svalů. Na příčně pruhovaném svalstvu močové trubice nebyly nalezeny žádné $\alpha 1$ -receptory.

Na močové trubici žen převládají $\alpha 2$ -adrenoreceptory. Rozdíl v hustotách $\alpha 1$ - a $\alpha 2$ -receptorů na močové trubici žen a mužů může být dán estrogenem. Zvýšená citlivost močové trubice samičky králíka k norepinefrinu indukovaná estrogenem je spojována se zvýšeným počtem $\alpha 2$ -receptorů (Larson a kol. 1984). Navíc kastrace samečka králíka zvýšila koncentraci $\alpha 2$ -receptorů jen málo, zatímco tato koncentrace byla výrazně zvýšena při podávání estrogenu (Mortia a kol. 1992). Koncentrace $\alpha 1$ -adrenergních receptorů poklesla výrazně po kastraci a nebyla ovlivněna podáváním estrogenu. Z toho plyne, že estrogen může snížit poměr $\alpha 1$ - k $\alpha 2$ -receptoru v hladké svalovině samčí močové trubice a tím změnit sympatickou kontrolu kontrakce močové trubice. Druhá možnost vlivu estrogenu na kontrolu vyprazdňování samců tkví v inervaci příčně pruhovaného svalu močové trubice. V páteři jsou centra, která jsou pohlavně dimorfní. Objemy těchto center jsou u samců krys větší, než je tomu u samic. Je známo, že vyšší hladiny androgenu zabraňují smrti motoneuronů ze SNB (centrum bulbokavernosy v páteři) a DLN (dorsolaterální centrum) u samců krys v průběhu časného

vývoje. Zdvýhač ani je mezi body SNB. DLN má dva body: ischiokavernosa a příčně pruhovaný svěrač močové trubice. Androgeny mohou také zabránit eliminaci synapsí v pohlavně dimorfním svalu zdvýhače ani a změnit profil inervace, který vidáme v dospělosti. Hormony indukovaná ztráta neuronů a synapsí může simulovat dobře rozpoznatelný důvod nevhodného zvýšení aktivity svěrače v průběhu kontrakce vypuzovače, kterou je možno vidět u pacientů s lézemi vnějších neuronů.

Kromě inhibice růstu, způsobuje dlouhodobé podávání estrogenů, nebo aromatizovatelných androgenů intaktním, či kastrovaným dospělým samcům různých živočišných druhů, růst prostaty na určitých periuretrálních místech. Tato místa, která jsou schopna odpovídat na působení estrogenu indukci epiteliální metaplasie, hyperplasie, nebo dysplasie, byla nalezena na prostatě několika živočišných druhů (opic, psů, morčat, kryš a myší). Lokalizace jaderných receptorů estrogenů (ERs) nalezených ve stromatu odpovídá místům histologických změn, demonstrováných u opic, psů a myší. ERs byly také nalezeny v periuretrální oblasti lidské prostaty, což naznačuje homologii zadní periuretrální oblasti prostaty (obsahující sběrné žíly a periuretrální žlázy) mezi druhy. Dle našich znalostí žádný z modelů změny prostatického růstu vlivem estrogenů nebyl dosud urodynamicky charakterizován, tudíž patofyziologický význam změny periuretrálního prostatického růstu spojeného s estrogeny je stále zahalen nevědomostí. Jako náznaky možné obstrukce močové trubice, zvětšeného močového měchýře, ztenčené stěny močového měchýře či kamenů v močovém měchýři byly příležitostně spatřeny u živočichů, kterým byly aplikovány estrogeny. Přestože vyšší, než fyziologické, krevní hladiny samičích hormonů jsou nezbytné k vyvolání periuretrálního prostatického růstu u dospělých živočichů, je možné, že estrogeny, respektive snížený poměr androgenů k estrogenům mohou být zapojeny v normálním hyperplastickém růstu lidské prostaty, stejně tak jako ve vývoji dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice.

Použitá literatura

Hinman, F a Baumann, F.W. Vesical and ureteral damage from voiding dysfunction in boys without neurologic or obstructive disease. J. Urol. 109:727, 1973.

Hoffman, B.F., Cranefield, P.F., Lepeschkin, E., Surawick, B. a Herrlich, H.C.. Comparison of cardiac monophasic action potentials recorded by intracellular and suction electrodes. Am. J. Physiol. 196(6):1297-1301, 1959.

Iosif, C.S., Batra, S., Ek.A. a Åstedt. Estrogen receptors in the human female lower urinary tract. Am. Obstet. Gynecol. 141:817, 1981.

Kaplan, S.A., Santarosa, R.P., d'Alisera, P.M., Fay, B.J., Ikeguchi, E.F., Hendrics, J., Klein, L. a Te, A.E.. Pseudodyssynergia (contraction of the external sphincter during voiding) misdiagnosed as chronic nonbacterial prostatitis and the role of biofeedback as a therapeutic option. J. of Urol. 157: 2234-2237, 1997.

Kaplan, S.A., Ikeguchi, E.F., Santarosa, R.P., d'Alisera, P.M., Hendrics, J., Klein, L., Te, A.E. a Miller, M. Ethiology of voiding dysfunction in men less than 50 years of age. Urology 47:836-839, 1996.

Larson, B., Andersson, K-E., Batra, S., Mattiasson, A. a Sjörgen, C. Effects of Estradiol on Norepinephrine-Induced Contraction, Alpha Adrenoreceptor Number and Norepinephrine Content in Female Rabbit Urethra. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 229:557-563, 1984.

Letrozole CGS-20267. Aromatase inhibitor. Drugs of the Future 19:335-337, 1994

Maggi, C.A., Santicioli, P. a Meli, A. The nonsotop transvesical cystometrogram in urethane-anesthetized rats. J. of Pharm. Meth. 15: 157-167, 1986a.

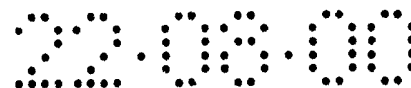
Mortia T., Tsuchiya, N., Tsuji, T. a Kondo, S. Changes of Autonomic Receptrors Following Castration and Estrogen Administeration in Male Rabbit Urethral Smooth Muscule. Tohoku J. Exp. Med. 166: 403-405, 1992

Oelrich, T.H., The Urethral Sphincter Muscle in the Male. Am. J. of Anat. 158: 229-246, 1980.

Prostatic Obstruction. Pathogenesis and treatment., editor Christopher R. Chapple. Springer-Verlag 1994.

Rudy, D.C., Awad, S.A. a Downe, J.W. External sphincter dyssynergia: An abnormal continence reflex. J. of Urol. 140: 105-110, 1988.

Smith, P., Heimer, G., Norgen a Ulmsten, U. Steroid Hormone Receptors in Pelvic Muscles and Ligaments in Women. Gynecol. Obstet. Invest. 30:27-30, 1990.



Strasser, H., Klima, G., Poisel, S., Horninger, W. a Bartsch, G. Anatomy and Innervation of the Rhabdosphincter of the Male Urethra. Prostate 28:24-31, 1996.

Trunet, Pf., Mueller Ph., Bhanthnagar, A.S., Dickers, I., Monnet, G., White, G. Open dose-finding study of a new potent and selective nonsteroidal aromatase inhibitor, CGS 20 267, in healthy male subjects. J. Clin. Endocrinol. Metab. 77: 319-323, 1993.

van Asselt, Groen, E.J. a van Mastrigt, R. A comparative study of voiding in rat and quinea pig: simultaneous measurement of flow rate and pressure. Am. J. of Physiol. 269 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 38): R98-R103, 1995.

Vaden Bossche, H., Moereels, H., Koymans, L.M.H.: Aromatase inhibitors – mechanism for non-steroidal inhibitors. Breast Cancer Res. Treatm. 30:43-55, 1994

Wilson, P.D., Baker, G., Barnard, R.J. a Siddle, N.C. Steroid Hormone Receptors in the Female Urinary Tract. Urol. Int. 39:5-8, 1984.

Yablonski, F., Savasta, M., Manier, M., Poirer, M., Lacolle, J.Y. a Freuerstein, C. Autoradiographic Localization of α 1-Adrenoreceptors in the Dog Prostate and Urethra With ^3H -Prazosin. Neurology and Urodynamics 10: 257-266, 1991.

Podstata vynálezu

Na jednu stranu se vynález zabývá použitím inhibitorů aromatasy k výrobě farmaceutické směsi k léčbě dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice u mužů, kde je zmíněná dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice uretrální dysfunkcí způsobenou u pacientů sníženým poměrem androgenů ku estrogenům, nebo sníženého poměru androgenů ku estrogenům u mužů.

Na straně druhé se vynález zabývá způsobem *in vivo* zkoumání vlivu určitých podmínek na močové funkce u samců s použitím živočišného modelu hlodavců. Zmínění hlodavci byli v tomto případě:

- vystavení určitým podmínkám
- podrobení anestezii



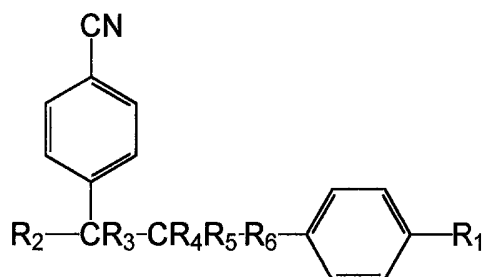
- byl jim zaveden tlakový snímač připojený k infúzní kanyle, která jim byla zavedena do močového měchýře. Dále byl zaveden průtokový snímač vsunutý do distální části močové trubice a spojen s průtokoměrem.
- byla jim zavedena infuze roztoku do močového měchýře, aby bylo vyvoláno močení, přičemž tlak v močovém měchýři a průtok močovou trubicí byly snímány jako funkce času. Způsob je proveden také tak, že hlodavcům byly připojeny elektrody ke svalstvu spodní části močového traktu. Tak byla snímána elektrická aktivita zmíněných svalů současně se záznamem tlaku v močovém měchýři a průtoku močovou trubicí.

Vynález se vztahuje na použití inhibitorů aromatasy u mužů k léčbě dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice, která způsobuje obstrukční dysfunkci vyprazdňování. Principiální důvod této dysfunkce může zahrnovat časnou estrogenizaci (demaskulunizaci) a/nebo nadměrnou produkci estrogenu a následný pokles poměru androgenu k estrogenu (DATER) v séru samčího organismu a/nebo v cílové tkáni. V těchto případech se může nebo nemusí zvětšovat prostata.

Vynález se také vztahuje na léčbu sníženého poměru androgenu k estrogenu u mužů, například samčího klimakteria, nebo andropauzy, které vznikají vlivem relativního nedostatku androgenu u mužů. Syndromy takové andropauzy mohou zahrnovat benigní hypertrofii prostaty (BPH), erekční dysfunkci, impotenci, neplodnost, gynekomastii (zvláště pak juvenilní gynekomastii), snižování objemu svalů, obezitu, dále postižení kostní hmoty a kondice a s tím související fyziologické symptomy. Je navrženo možné zlepšení DATER použitím inhibitorů aromatasy. Tyto léky specificky a účinně zvyšují poměr androgenu k estrogenu. Mohou být bezpečně podávány mužům k léčbě syndromů a symptomů spojených s relativním nedostatkem androgenu (DATER). Tyto léky inhibují konverzi androgenů na estrogeny a tím působí dvěma způsoby, jednak snížením hladiny estrogenu a vzrůstem hladiny androgenu (obr. 1).

Aromatasa je enzymový komplex sestávající z NADPH-cytochrom C reduktasy a specifického cytochromu P-450. Reakce, která je katalyzována aromatasou je jediná svého druhu v biosyntéze steroidů. Zahrnuje konverzi kruhu A steroidní struktury na aromatický kruh za současné ztráty angulární metylové skupiny na C-19 a cis-eliminaci vodíků 1 β a 2 β za vzniku estrogenu a kyseliny mravenčí. Aromatizace je poslední a důležitý krok při biosyntéze estrogenů z cholesterolu (viz obr. 1). Tudíž blokáda tohoto enzymu neovlivňuje syntézu jiných důležitých steroidů, jako kortizolu nebo samčích pohlavních hormonů.

Jako vhodný selektivní inhibitor aromatasy může být zmíněna například sloučenina vzorce (I) z mezinárodní patentové přihlášky číslo WO 94/13645. Zmíněná sloučenina



(I)

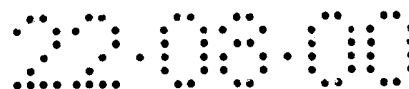
kde R_1 znamená vodík, metyl, metoxy, nitro, amino, kyano, trifluormetyl, difluormetyl, monofluormetyl nebo halogen; R_2 je heterocyklický radikál zvolený ze skupiny sestávající z 1-imidazolyly, triazolyly, tetrazolyly, pyrazolyly, pyrimidinylu, oxazolyly, thiazolyly, isoxazolyly, a isothiazolyly; R_3 je vodík nebo hydroxy skupina; R_4 je vodík; R_5 je vodík nebo hydroxy skupina; nebo R_4 je vodík a R_4 a R_5 tvoří společně vazbu; nebo je R_3 vodík a R_4 a R_5 společně tvoří $=\text{O}$; R_6 je metylen, etylen, $-\text{CHOH}-$, $-\text{CH}_2\text{CHOH}-$, $-\text{CHOH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ nebo $-\text{C}(=\text{O})-$; nebo R_4 je vodík a R_3 a R_6 tvoří spolu $=\text{CH}-$ nebo $=\text{CH}-\text{CH}_2-$; nebo stereoisomer, nebo netoxická farmaceuticky přijatelná kyselá sůl.

Výhodnou sloučeninou z této skupiny je 1-[1-(4-kyanofenyl)-3-(4-fluorfenyl)-2-hydroxypropyl]-1,2,4-triazol. Výhodnější je diastereoizomer a + d 1-[1-(4-kyanofenyl)-3-(4-fluorfenyl)-2-hydroxypropyl]-1,2,4-triazolu, který je také znám pod kódem MPV-2213ad. Výhodné jsou také oddělené diastereoizomery a a d z této směsi.

Jako příklady dalších vhodných inhibitorů aromatasy mohou být zmíněny anastrozol, fadrozol, letrozol, varozol, roglethimid, atamestan, exemestan, formestan, YM-511 (4-[N-(4-brombenzyl)-N-(4-kyanofenyl)amino]-4H-1,2,4-triazol), ZD-1033 (arimedex) a NKS-01 (14- α -hydroxyandrost-4-en-3,6,17-trion) a jejich stereoisomery a netoxické farmaceuticky přijatelné kyselé soli.

MPV-2213ad, bylo tak jako i ostatní popsané specifické inhibitory aromatasy myšleno hlavně k léčbě rakoviny ženského prsu, u níž estrogeny podporují růst tumoru a inhibitor aromatasy, snížením jejich hladiny, inhibuje růst tumoru. U mužů inhibitory aromatasy dramaticky snižují koncentraci estradiolu a mohou současně zvýšit koncentrace testosteronu, což je zvláště vhodné pro vzrůst DATER a pro léčbu vyprazdňovací dysfunkce způsobené DATER, jak bylo popsáno dříve.

Pro účely vynálezu mohou být inhibitory aromatasy, nebo jejich stereoisomery, nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli podávány různými cestami. Vhodné cesty administrace zahrnují například orální formu, parenterální injekční formu zahrnující intravenózní, intramuskulární, intradermální a subkutánní injekce; a transdermální nebo rektální formy.



Vhodné orální formy zahrnují například konvenční tablety s pomalým uvolňováním a želatinové kapsle.

Požadovaná dávka inhibitoru aromatasy bude kolísat podle konkrétních podmínek použití, intenzity podmínek, délkou léčby, cestou podávání, a konkrétní použitou sloučeninou. Například MVP-2213ad může být podávána perorálně, nejlépe jednou denně. Denní dávek činí 1 až 30 mg, nejlépe 3-10 mg. MVP-2213ad může být podáváno ve formě tablet nebo jiných forem, jako želatinových kapslí samotných nebo v kombinaci s jakoukoli klinicky přijatelnou neaktivní látkou, která je používána ve farmaceutickém průmyslu.

Vynález se také vztahuje na nový způsob, který umožňuje studium urodynamiky u krys do detailů, které nebyly v minulosti možné. Způsob podle vynálezu je založen na kombinaci měření tlaku v močovém měchýři, toku moče v močové trubici a současně měření elektrické aktivity hladké svaloviny spodní části močového traktu (tj. vypuzovače, krčku močového měchýře a svěrače močové trubice).

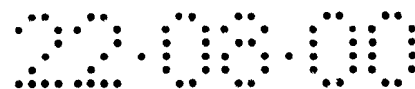
Signály tlaku v močovém měchýři, toku moče a elektrické aktivity vypuzovače, krčku močového měchýře a svěrače močové trubice jsou přeneseny do naprogramovaného počítače a případně zobrazeny.

Hlodavům, tj. krysám, může být například podávána látka, jejíž účinek na močový trakt zmíněného hlodavce má být zkoumán. Tento živočišný model může být také použit pro výzkum vlivu určitých fyzikálních podmínek na močové funkce zmíněných hlodavců.

Vzhledem k výhodné aplikaci, je způsob uplatňován při zkoumání schopnosti určité sloučeniny zvrátit stav dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice, který byl u hlodavců indukován. Po indukci dyssynergie byla hlodavcům podávána látka, jejíž účinek na dyssyngii vypuzovače a svěrače močové trubice měl být testován.

Tento model umožňuje urodynamické studie v kombinaci s morfologickými výzkumy, protože na rozdíl od předchozích metod, nový způsob podle vynálezu registruje akční potenciál hladké svaloviny a příčně pruhovaného svalu svěrače ze spodní části močového traktu. Toto dává informaci o lokalizaci ploch, které by měly být předmětem morfologických studií.

Ve studiu problémů s vyprazdňováním u neonatálně estrogenizovaných krys bylo po počátečních náhodných objevech systematicky pokračováno. Vznikl maximální tlak v průběhu rychlé oscilace a pokles rychlosti toku naznačovaly neúplně otevřený krček močového měchýře a/nebo lumen močové trubice v době, kdy je smršťován sval vypuzovač a započato vyprazdňování. Nebyl zaznamenán žádný nárůst hmoty periurethrálních žláz, proto nebylo pravděpodobné že by tkáň periurethrálních žláz způsobila statické okluze urethrálního lumen.



Tento živočišný model dovoluje reprodukci urodynamických charakteristik (vzrůstu tlaku v močovém měchýři, sníženého toku moče, přerušovaného a prodlouženého močení) na člověka trpícího dyssynergií vypuzovače a močové trubice. Přestože živočišný model nemůže být jednoduše extrapolován na člověka, je nyní poprvé možné analyzovat kvantitativně a současně fyziologický proces normálního a změněného vyprazdňování bez nutnosti mechanické obstrukce. Podobná měření mohou být v budoucnu použita u lidí k diferenční diagnostice urethrálních dysfunkcí.

Živočišný model pro studium dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice je zkonstruován následovně. Samci šlechtěných krys byly neonatálně podrobeni působení estrogenu (10 mg dietylstilbesterolu (DES) denně a ve 1 až 5 dnech postnatálního vývoje). Po působení dietylstilbesterolu byly krysy ponechány v normálním vývoji bez jakéhokoli zásahu 5 až 6 měsíců za standardních podmínek. V průběhu tohoto období se vyvinula dysfunkce vypuzovače a močové trubice.

Měření elektrické aktivity svalů spodní části močového traktu ukázalo, že neonatální expozice estrogenu (dietylstilbesterolu, DES) implikuje samce krys k chorobě otevírání močové trubice, způsobené dyssynergií vypuzovače a svěrače močové trubice. Vzrůst maximálního tlaku v močovém měchýři v průběhu vyprazdňování nemusí být nezbytně způsobeno strukturní změnou hladké svaloviny coby složky stěny močové trubice. Buňky hladké svaloviny jsou ve střední a distální části stěny močové trubice obaleny svěračem močové trubice (od úrovně vstupu ejakulačních žil do močové trubice a prostatických sběrných žil až po vnitřní plochu pánevního dna).

Doposud není známo jak může estrogen ovlivnit strukturu a funkci svalů. Estrogeny by mohly ovlivnit aktivitu hladkého svalstva s pomocí účinku zprostředkovaného autonomním nervovým systémem. Bylo navrženo, že hustota α_2 -adrenergních receptorů a kontraktilní odpověď buněk hladkých svalů močové trubice je zvýšena estrogeny u samců i samic králíka. Bohužel však neexistuje žádný důkaz přímého působení estrogenů na buňky hladké svaloviny močové trubice, potažmo pak na urodynamické parametry muže či ženy. Časná estrogenizace by mohla pozměnit relativní příspěvky různých embryonálních tkání (tj. včetně Müllerianových žil) do formování svalové tkáně močové trubice.

Jsou popsány zkušenosti s používáním vyvinutého způsobu výzkumu vlivu neoDES působení na močové funkce a zvrácení močové dysfunkce působením inhibitoru aromatasy MPV-2213ad. Na 5 měsíců staré kontrolní a neonatálně estrogenizované krysy bylo působeno inhibitorem aromatasy MPV2213ad suspendovaném v nosiči. Vodný roztok karboxymethylcelulosity (CMC) byl použit jako placebo. Při působení inhibitoru aromatasy bylo

porovnávalo 10 mg/kg MPV-2213ad s placebem. Působení bylo prováděno perorálně po dobu čtyř nebo šesti týdnů. Zde se uvádí především výsledky šestitýdenních pokusů. Naše výsledky ukazují, že působení inhibitoru aromatasy zvrátilo urodynamické změny: tlak v močovém měchýři poklesl a průtok se zvýšil. Označení jednotlivých skupin jsou následující: P bylo podáváno placebo, A působení inhibitoru aromatasy, C kontrola a D značí neonatálně estrogenizované krysy (neoDES) a n představuje množství krys.

Způsob urodynamického měření

Způsob podle vynálezu zaznamenávání urodynamiky u krys představuje kombinaci transvesikální cystometrie (Maggi a kol. 1986a) se záznamem průtoku s pomocí průtokoměru (van Asselt a kol. 1995) a záznamem elektrické aktivity hladkého svalstva přísavkovými elektrodami (Hoffman a kol. 1959). Kombinace těchto původních metod nebyla nikdy použita ke studiu urodynamiky hlodavců.

Uspořádání způsobu s použitím uspané krysy je zobrazeno na obr. 3. Infúzní kanyla je vsunuta do močového měchýře. Infúzní kanyla je propojena s infúzní pumpou a převodníkem tlaku. Průtoková sonda je vsunuta do distální části močové trubice a propojena s průtokoměrem. Hladké svaly a příčně pruhované svaly svěrače močového traktu hlodavců jsou také vybaveny elektrodami snímajícími elektrickou aktivitu (EMG) zmíněných svalů. K vyvolání močení je v daném časovém bodě infúzí vpravena do močového měchýře tekutina. Tlak v močovém měchýři, proud moče a elektrické aktivity svalů jsou zaznamenávány jako funkce času. Sestava dále zahrnuje nezbytné elektronické součásti, jako jsou zesilovač signálů, převodníky a naprogramovaný počítač.

Při pokusech popsaných níže bylo tvořeno pokusné vybavení následujícími součástmi:

- Zesilovač: Grass, model 7P1122B, Grass Instruments Co., USA
- Převodník tlaku: Statham P23BC, Grass Instruments Co., USA
- Přísavkové elektrody: Přísavkové elektrody byly vyrobeny z tenkostěnné silikonové trubice (vnitřního průměru 1,10 mm a vnějšího průměru 2 mm) ve které byl vsunut tenký (0,125 mm) chloridovaný stříbrný drát (World Precision Instruments, Inc. Sarasota).
- Průtokoměr: Transsonic Systems Inc. Animal Research Flowmeter typ T206.
- Průtoková sonda: Transsonic Systems, Inc. Probe # 2,5SB178
- Infúzní pumpa: Mikroperpex® peristaltic infusion pump, LKB nebo B.Braun-Melsungen AG, typ 1831, D-3508 Melsungen/West Germany.
- Vodní lázeň: B.Braun, Thermomix® MM, typ 852102/6, Melsungen/West Germany.

- Zvířecí vyhřívaná pokrývka: Harvard Animal Blanket control unit (typ 50-7061, Harvard Apparatus Limited, Edgenbridge, England).
- Převodník signálu: Biopac-system MP 100A, Biopac Systems Inc. Santa Barbara, California.
- Záznamový program: Acq Knowledge 3,02 (MP100 Manager Version 3,02, Copyright© 1992-95 BIOPAC Systems Inc.).

Přehled obrázků

Obrázek 1 popisuje metabolismus steroidů se zvláštním zřetelem k aromatáze a jejím inhibitorům.

Obrázek 2 představuje lidskou, respektive krysí spodní část samčího močového traktu.

Obrázek 3 zobrazuje schématické uspořádání způsobu urodynamického měření u samců krys.

Obrázek 4a ukazuje závislost tlaku v močovém měchýři (v mm Hg), elektrickou aktivitu krčku močového měchýře (EMG), svěrače močové trubice (EMG) a vypuzovače (EMG) (elektrická aktivita je zaznamenána v mV) a tok moči (v ml/min) na čase. Obrázek ukazuje měření kontrolní krysy prováděné způsobem podle vynálezu.

Obrázek 4b ukazuje závislost tlaku v močovém měchýři (v mm Hg), elektrickou aktivitu krčku močového měchýře (EMG), svěrače močové trubice (EMG) a vypuzovače (EMG) (elektrická aktivita je zaznamenána v mV) a tok moči (v ml/min) na čase. Obrázek ukazuje měření u krys neoDES (neoDES = neonatální působení dietylstilbesterolu (DES) na kysu) prováděné způsobem podle vynálezu.

Obrázek 5 ukazuje elektrickou aktivitu svěrače močové trubice (rhabdosphincter; EMG), vypuzovače (EMG) a tok moči v závislosti na čase u kontrolní krysy.

Obrázek 6 ukazuje elektrickou aktivitu svěrače močové trubice (rhabdosphincter; EMG), vypuzovače (EMG) a tok moči v závislosti na čase u krys neoDES.

Obrázek 7 ukazuje elektrickou aktivitu svěrače močové trubice (rhabdosphincter; EMG), vypuzovače (EMG) a tok moči v závislosti na čase u krys neoDES na které bylo působeno inhibitorem aromatasy MPV-2213ad po dobu 6 týdnů.

Příklady provedení vynálezu

Krysy byly uspány chloralhydrátem (0,9 g/kg; Sigma Chemicals Co. St. Luis. MO 63178, USA) i.p..Když bylo třeba, byla anestezie udržována pomocí urethanu (0,32 g/kg; Sigma Chemicals Co. St. Luis. MO 63178, USA) i.v.. Tělesná teplota byla udržována v rozmezí 36°C až 38°C termostaticky kontrolovanou pokrývkou a v případě potřeby zahřívací lampou. Močový

měchýř a distální část mošové roury byly obnaženy středovým řezem spodní částí břicha. Kanyla (20G i.v) byla transvesikální cystometrií zavedena přes vrchol močového měchýře do jeho lumen. Kanyla byla připojena na infúzní pumpu a tlakoměr. Celý systém byl naplněn slaným roztokem. Měření byla prováděny při infúzním průtoku 0,185 ml/min. K měření průtoku v distální části močové trubice byla použita ultrasonická průtoková sonda, připojená k průtokoměru se vzorkovacím kmitočtem 100Hz. Současně s měřením transvesikální cystometrie a průtoku byly snímány přísavkovými elektrodami elektrické aktivity vypuzovače, krčku močového měchýře a příčně pruhovaného svěrače močové trubice (rhabdosphincteru). Elektrody byly přichyceny ke svalům z břišní strany podtlakem (poskytnutým vodní vývěvou). Přísavkové elektrody a převodník tlaky byly zapojeny na zesilovač. Při měření elektrické aktivity jsme použili nízkofrekvenční AC spojení (0,8 Hz). Referenční a zemní elektroda byly umístěny na okraj rána tak, že nebyl zjistitelný EKG signál. Tkáň byla udržována ve vlhkém stavu teplým (37°C) roztokem soli. Signály tlaku, napětí a průtokoměru byly převedeny do Biopac-systému. Biopac-systém byl spojen s PC. Kontinuální záznam byl prováděn programem Acq Knowledge 3,02 se vzorkováním 400 Hz. Analýza dat byla prováděna stejným programem. Statistická analýza byla prováděna s pomocí ANOVA. Tabulky ukazují váhu hodnot p (post hoc; LSD - test).

Výsledky

Vliv inhibitoru (MPV-2213ad) aromatasy na vyprazdňování kontrolních a neonatálně estrogenizovaných samců krys

Byly porovnány záznamy od krys, kterým bylo podáváno placebo, kontrolních krys jimž byl podáván inhibitor a neoDES krys. Neonatální estrogenizace působí negativně na několik urodynamických parametrů. Pro vyprazdňování samců krys jsou charakteristické vysokofrekvenční oscilace intraluminálního tlaku (IPHFO) v močovém měchýři. Prvním parametrem je tlak v močovém měchýři (maximální a průměrné tlaky). Maximální a průměrné tlaky jsou vypočítány z oscilací. Maximální hodnota odpovídá nejvyššímu vrcholu a nejnižší hodnota je určena ze všech oscilací. Jak hodnota maximálního tak průměrného tlaku byly vyšší u krys neoDES, kterým bylo podáváno placebo (PD), oproti kontrolním krysám, kterým bylo placebo podáváno (PC). Působením inhibitoru aromatasy bylo docíleno výrazného snížení maximálního a průměrného tlaku v močovém měchýři u neoDES (AD) krys v průběhu vyprazdňování, zatímco nebyl pozorován žádný efekt podávání inhibitoru aromatasy kontrolním (AC) zvířatům (tabulka 1).

Tabulka 1

Maximální a průměrné hodnoty tlaku (mm Hg) v močovém měchýři

Maximum	průměr	směrodatná odchylka $\pm$	n	p
PC	38,12	4,66	11	
AC	39,15	2,11	11	0,5789
PD	45,35	6,13	11	0,0003
AD	42,21	3,38	12	0,0282
průměr				
PC	28,02	3,25	11	
AC	30,10	1,60	11	0,1197
PD	34,80	4,11	11	>0,0001
AD	31,51	2,78	12	0,0093

Druhým parametrem je průtok. Maximální a průměrné průtoky byly znatelně nižší u PD krys v porovnání se skupinou PC. Působením inhibitoru aromatasy byl výrazně zvýšen maximální a průměrný průtok u zvířat ze skupiny AD (tabulka 2).

Tabulka 2 Maximální a průměrný průtok (ml/min)

Maximum	průměr	směrodatná odchylka $\pm$	n	p
PC	29,80	11,84	11	
AC	31,14	17,28	11	0,7986
PD	20,03	7,04	11	0,0339
AD	30,79	10,88	12	0,8067
průměr				
PC	4,79	1,87	11	
AC	6,54	4,22	11	0,1081
PD	2,63	1,04	11	0,0498
AD	5,02	1,74	12	0,8276

Parametr průměrného průtoku byl zvolen proto, že močení krys neoDES se většinou skládalo z několika vyprazdňování (obrázek 4a ukazuje jedno močení kontrolní krysy; obrázek 4b jedno močení krysy neoDES). Tento fenomén prodlužuje dobu vyprazdňování krys neoDES, která je naším třetím parametrem. Jak bylo zmíněno doba močení byla výrazně prodloužena u zvířat ze skupiny PD. Jak je vidět z obrázků 4a a 4b je u neoDES krys močení rozděleno do několika kratších fragmentů a celková doba močení je delší než je tomu u kontrolních krys. Ve skupině krys AD se doba močení znormalizovala. Dokonce i ve skupině AC je doba močení kratší, než u skupiny PC (tabulka 3).

Tabulka 3

Doba močení (sekundy)

	průměr	směrodatná odchylka $\pm$	n	p
PC	7,10	2,75	11	
AC	4,91	2,25	11	0,1421
PD	11,12	5,74	11	0,210
AD	8,24	4,04	12	0,4315

Za účelem zjištění role vypuzovače, hladkých svalů močové trubice a příčně pruhovaného svalu svěrače (rhabdosphincteru) při močení byly měřeny současně s transvesikální cystometrií a průtokem i extracelulární elektrické aktivity vypuzovače, proximální části močové trubice (krčku močového měchýře) a příčně pruhovaného svěrače. Voltáž dobře korespondovala s tlakem. Vysoké amplitudy elektrické aktivity na všech třech elektrodách začaly se začátkem IPHFO tlaku. Tvar záznamu elektrické aktivity příčně pruhovaného svěrače se liší od aktivity hladkého svalu močového měchýře. Jeho elektrická aktivita společně s aktivitou vypuzovače a příčně pruhovaného svalu svěrače indikovaly uzavření močové trubice. V časné fázi oscilací byl AP (AP – akční potenciál) příčně pruhovaného svěrače v rozdílné fázi v porovnání s AP vypuzovače. Když se objevují maxima průtoku, má AP stejné načasování. Když se objevují první vrcholy průtoku, AP příčně pruhovaného svěrače se začne odlišovat od AP vypuzovače. AP vypuzovače a příčně pruhovaného svěrače jsou simultánní. Z hydrodynamického hlediska je nemožné aby aktivace současně uzavřela lumen močového měchýře, příčně pruhovaný svěrač a zabránila tak toku. Vysvětlení této protichůdnosti leží v hyperpolarizaci ve středu AP příčně pruhovaného svěrače (obr. 5, šipka). U AP začíná depolarizace, když je rychle hyperpolarizován a končí depolarizací (obr. 5). Načasování hyperpolarizace souhlasí s načasováním vrcholů průtoku (obr. 5). Močová trubice se zdá být otevřena v době krátké hyperpolarizace. Tato elektrická aktivita není pozorovatelná u krys ze skupiny PD, které vykazují jeden akční potenciál (stejně jako vypuzovač) (obr. 6, šipka). Toto naznačuje chybu v otevíracím mechanismu příčně pruhovaného svěrače močové trubice. Inhibitor aromatasy normalizoval u skupiny AD tuto dyssynergii vypuzovače a svěrače močové trubice (obr. 7, šipka). Přes chybu v otevíracím mechanismu příčně pruhovaného svěrače je možné vyprazdňování. Příčinou může být prodloužená doba trvání AP svalů vypuzovače i proximálního hladkého svalstva močové trubice u PD krys v porovnání s PC zvířaty. Zvýšení doby trvání u AP je spojováno s hypertrofií svalů vypuzovače a svalů hrdla močového měchýře. To naznačuje, že se zvýšila síla vypuzovače a že může tlačit moč přes uzavřenou močovou trubici. V AD skupině doba trvání hladkého svalstva AP je snížena (tabulky 4 a 5).

Tabulka 4

Doba trvání AP u vypuzovače na počátku, uprostřed a na konci IPHFO

Doba trvání (ms) začátek	průměr	směrodatná odchylka $\pm$	n	p
PC	0,105	0,005	8	
AC	0,096	0,01	5	0,3619
PD	0,125	0,037	5	0,0590
AD	0,103	0,011	6	0,7897
střed				
PC	0,093	0,012	8	
AC	0,078	0,014	5	0,1018
PD	0,118	0,014	5	0,0058
AD	0,93	0,013	6	0,9568
konec				
PC	0,099	0,009	8	
AC	0,087	0,012	5	0,2458
PD	0,130	0,03	5	0,0059
AD	0,113	0,016	6	0,1764

Tabulka 5

Doba trvání AP hrdla močového měchýře na počátku, uprostřed a na konci IPHFO

Doba trvání (ms) začátek	průměr	směrodatná odchylka $\pm$	n	p
PC	0,116	0,007	8	
AC	0,104	0,014	5	0,0997
PD	0,110	0,012	5	0,4152
AD	0,09	0,015	6	0,3374
střed				
PC	0,101	0,009	8	
AC	0,09	0,014	5	0,1554
PD	0,134	0,019	5	0,0003
AD	0,105	0,010	6	0,6338
konec				
PC	0,107	0,007	8	
AC	0,099	0,016	5	0,3772
PD	0,131	0,021	5	0,0161
AD	0,119	0,014	6	0,1726

Poslední parametr ukazuje množství zbytkové moči. To se měří následovně. Nejdříve se vyprázdní močový měchýř pomocí sání. Během této doby se močový měchýř neplní infuzí solného roztoku. Teprve až po vyprázdnění močového měchýře se začne plnit infuzí (0,185 ml/min). Po vymočení (zapříčiněno infuzí solného roztoku) se v trubicích zkontroluje vyprázdněný objem, který je odečte od objemu daného infuzí. Léčba pomocí inhibitoru

aromatasy neovlivnila množství zbytkové moči u kontrolních krys. Jak je patrné u krys neoDES množství zbytkové moči se podstatně zvýšilo. Léčba pomocí inhibitoru aromatasy (již 4 týdny) snižuje zbytkovou moč. Hodnoty jsou ukázány v tabulce 6.

Tabulka 6

Zbytková moč v mililitrech (4.týdenní studie)

	průměr	směrodatná odchylka ±	n	p
PC	0,375	0,14	11	
AC	0,359	0,12	9	0,8522
PD	0,717	0,27	9	0,0003
AD	0,589	0,20	9	0,0152

Experimenty prokázaly že působení MPV-2213ad může zvrátit mnohé škodlivé vlivy působení neoDES. Výhodný účinek MPV-2213ad byl zaznamenán v několika parametrech. Ve čtyřtýdenní studii byly zaznamenány pozitivní výsledky, které však jen stěží dosahují statistické významnosti. V šestitýdenní studii normalizovalo MPV-2213ad vyprazdňovací dysfunkci lépe. Výsledky ukazují, že prodloužením léčby je možné dosáhnout ještě lepších výsledků.

Vliv inhibitoru aromatasy na koncentraci estradiolu a testosteronu u mužů

Aby byl podepřen farmakologický účinek MPV-2213ad u mužů, byla zmíněná sloučenina podávána jako jedna dávka čítající 0,03; 0,3; 3; 9; 30; 100; 300 a 600 mg. Počet subjektů na dávku byl 3, s výjimkou dávek 300 a 600 mg, kde byl počet 10, respektive 8. Studium bylo provedeno jako Fáze I studia podle „Good clinical Practise regulations“. Koncentrace testosteronu a estradiolu byly měřeny na Spectra RIA, Orion Diagnostica, Turku, Finland. Bylo provedeno několik dalších analýz, které však nejsou uvedeny v této publikaci. U měřených proměnných však nebyly nalezeny žádné abnormality. Jak je uvedeno v tabulce číslo 7, koncentrace estradiolu se výrazně snížila a koncentrace testosteronu mírně, ale konzistentně zvýšila jako funkce dávky. Vyšší dávky měly déle trvající účinek než dávky menší. Vzrůst koncentrace testosteronu byl jednoznačnější při vyšších dávkách a po 2 až 4 dnech po jednorázové dávce. Poměr androgenu ku estrogeneru se výrazně zvýšil (několikanásobně při vyšších dávkách). Tyto výsledky ukazují, že inhibitor aromatasy MPV-2213ad má předpokládaný účinek u mužů. Předkládaná studie popisuje pouze účinek jednorázové dávky a je na srozuměnou, že účinek je ještě zřetelnější při podávání inhibitoru delší dobu.

Podobný typ výsledků byl zaznamenán i s jinými inhibitory aromatasy v klinických studiích fáze I (Vanden Bossche a kol. 1994; Trunet a kol. 1993), což naznačuje, že racionalita tohoto vynálezu se vztahuje i na ostatní specifické inhibitory aromatasy. Mezi takové inhibitory

patří anastrozol, fadrozol, letrozol, vorozol (a enantiomery), roglethimid, atamestan, exemestan, formestan, YM-511, ZD-1033 a NKS-01 (Drugs of the future, 19:335-337, 1994).

Tabulka 7

Demografická data testovaných subjektů jednorázové studie MPV-2213ad.

Dávka (mg)	věk (roků)	výška (cm)	hmotnost (kg)
0,03	23(1,0)	177(10,6)	69(3,8)
0,3	24(0,6)	181(6,7)	73(1,2)
3	22(1,0)	180(9,1)	81(2,9)
9	21(1,2)	177(4,5)	69(7,5)
30	20(1,2)	181(5,3)	78(4,7)
100	24(4,7)	176(5,0)	71(5,0)
300	24(2,9)	180(6,0)	73(4,0)
600	25(3,1)	180(6,7)	75(8,7)

Tabulka 8

Koncentrace estradiolu, testosteronu a jejich poměr před, jeden den po a dva dny po jednorázové dávce MPV-2213ad. Tabelována je i směrodatná odchylka (SD). Je uveden poměr T ku E, vypočtený jako T nmol/l / E pmol/l. Jako den 0 je uvedena hodnota v 8:00 hod. dopoledne před podáním. Ve dnech 1 a 2 byly koncentrace měřeny ve stejnou dobu (8:00 hod. dopoledne), aby bylo eliminováno denní kolísání koncentrací hormonů.

Dávka(mg)	estradiol pmol/l (den 0)	estradiol pmol/l (den 1)	estradiol pmol/l (den 2)	testosteron nmol/l (den 0)	testosteron nmol/l (den 1)	testosteron nmol/l (den 2)
0,03	124(58,2)	133(63,9)	124(67,1)	25(4,2)	25(8,1)	25(6,9)
0,3	97(20,4)	85(15,5)	95(38,7)	17(4,6)	19(7,1)	21(9,1)
3	92(11,2)	39(5,5)	89(10,1)	16(3,5)	16(2,1)	20(5,0)
9	155(16,1)	69(2,5)	149(23,1)	25(3,0)	29(2,6)	32(5,9)
30	159(52,6)	58(19,9)	130(38,6)	23(1,2)	31(1,5)	27(3,1)
100	116(31,8)	36(13,4)	58(12,1)	14(5,5)	17(7,0)	21(6,0)
300	115(30,0)	33(12,8)	55(17,8)	17(3,3)	24(4,3)	24(4,1)

600	101(43,6)	33(16,6)	51(28,6)	18(5,1)	23(6,6)	24(8,7)
-----	-----------	----------	----------	---------	---------	---------

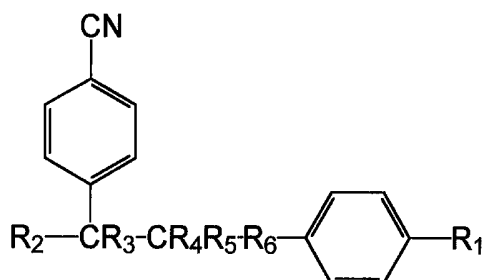
Dávka (mg)	Poměr T ku E (Den 0)	Poměr T ku E (Den 1)	Poměr T ku E (den 2)
0,03	0,20	0,18	0,20
0,3	0,18	0,22	0,22
3	0,17	0,41	0,22
9	0,18	0,42	0,22
30	0,14	0,53	0,20
100	0,12	0,47	0,36
300	0,14	0,72	0,43
600	0,17	0,70	0,47

Na základě výsledků, které jsme obdrželi ze zvířecího modelu popsaného výše pro studium dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice, předpokládáme, že estrogeny hrají klíčovou úlohu při vývoji svalové dysfunkce zapojené u dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice. Pokusy na vývojově estrogenizovaných kryších s inhibítorem aromatasy MPV-2213ad ukazují, že neurosvalové změny nejsou přinejmenším částečně zvrátitelné. Pokusy na mladých mužích (> 40 roků) ukazují, že jednorázová dávka MPV-2213ad způsobila dramatický pokles koncentrace estradiolu a naopak koncentrace testosteronu po této dávce mírně vzrostly, což umožňuje léčbu DATER.

Je samozřejmé, že způsob podle vynálezu může mít řadu podob a forem, z nichž jen některé jsou popsány zde. Odborníkovi bude jasné, že existují další podoby neodchylující se od smyslu tohoto vynálezu. Uvedené podoby jsou tudíž uvedeny pouze jako ilustrativní příklady a neměly by být považovány za omezení.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití inhibitoru aromatasy k výrobě farmaceutické kompozice pro léčbu dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice u mužů, kde je dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice dysfunkcí způsobenou sníženým poměrem androgenů k estrogenům u pacienta, nebo sníženého poměru androgenu k estrogenu u mužů.
2. Použití podle nároku 1, kde inhibitorem aromatasy je sloučenina vybraná ze skupiny sestávající z anastrozolu, fadrozolu, letrozolu, vorozolu, roglethimidu, atamestanu, exemestanu, formestanu, YM-511 (4-[N-(4-brombenzyl)-N-(4-kyanofenyl)amino]-4H-1,2,4-triazolu), ZD-1033 (arimedexu) a NKS—01 (14- α -hydroxyandrost-4-en-3,6,17-trionu); nebo sloučenina obecného vzorce I



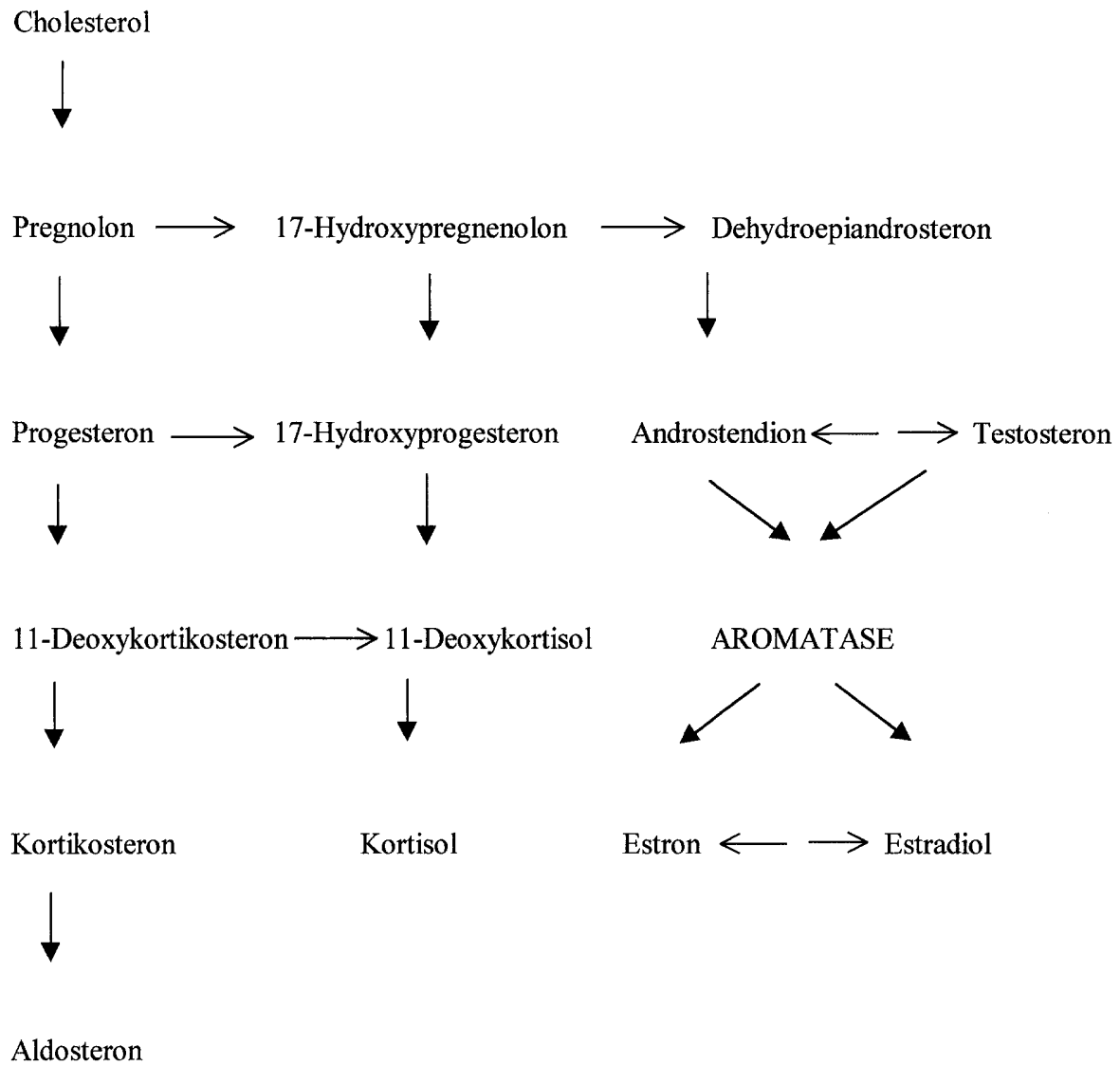
(I)

kde R_1 znamená vodík, metyl, metoxy, nitro, amino, kyano, trifluormetyl, difluormetyl, monofluormetyl nebo halogen; R_2 je heterocyklický radikál vybraný ze skupiny sestávající z 1-imidazolyly, triazolyly, tetrazolyly, pyrazolyly, pyrimidinyly, oxazolyly, thiazolyly, isoxazolyly, a isothiazolyly; R_3 je vodík nebo hydroxy skupina; R_4 je vodík; R_5 je vodík nebo hydroxy skupina; nebo R_4 je vodík a R_4 a R_5 tvoří společně vazbu; nebo je R_3 vodík a R_4 a R_5 společně tvoří $=O$; R_6 je metylen, etylen, $-CHOH-$, $-CH_2CHOH-$, $-CHOH-CH_2-$, $-CH=CH-$ nebo $-C(=O)-$; nebo R_4 je vodík a R_3 a R_6 tvoří spolu $=CH-$ nebo $=CH-CH_2-$; nebo stereoisomer, nebo netoxická farmaceuticky přijatelná kyselá sůl.

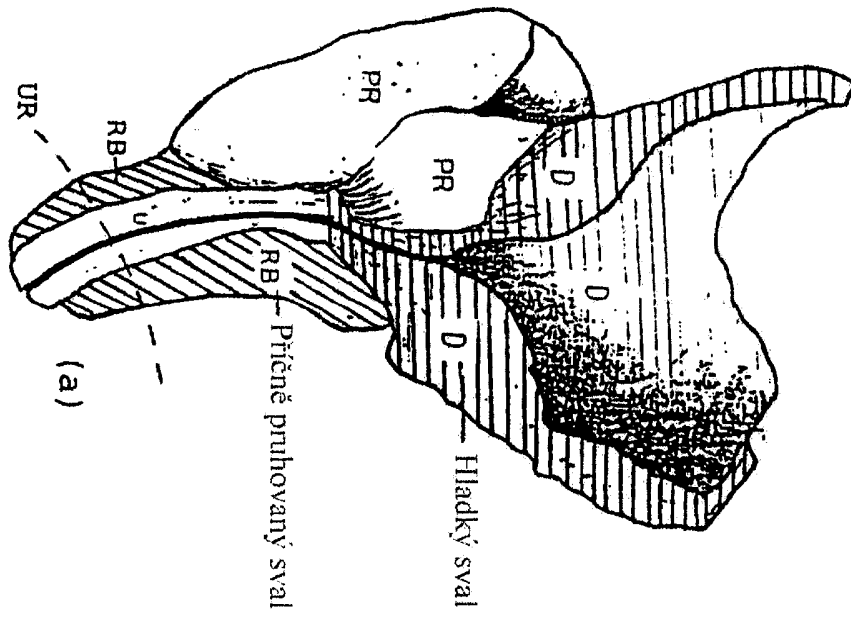
3. Použití podle nároku 2, kde sloučeninou inhibující aromatasu je 1-[1-(4-kyanofenyl)-3-(4-fluorfenyl)-2-hydroxypropyl]-1,2,4-triazol, jeho stereoisomer, nebo netoxická farmaceuticky přijatelná kyselá sůl.

4. Použití podle nároku 3, kde sloučeninou inhibující aromatasu je diastereoizomer a + d 1-[1-(4-kyanofenyl)-3-(4-fluorfenyl)-2-hydroxypropyl]-1,2,4-triazol; oddělený izomer a, nebo oddělený izomer d.
5. Použití podle nároku 1, kde je dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice kombinovaná se zvětšením prostaty.
6. Použití podle nároku 1, kde není dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice kombinovaná se zvětšením prostaty.
7. Použití podle nároku 1, kde snížený poměr androgenů k estrogenům je symptomem spojeným s andropauzou.
8. Použití podle nároku 1, kde symptomy jsou vybrány ze skupiny sestávající z neplodnosti, obezitou, poruchou erekce, impotencí a gynekomastií.
9. Způsob zkoumání vlivu určitých podmínek *in vivo* na močové funkce samců s použitím zvířecího modelu samců hlodavců, kteří se vystaví podmínkám, uspí, vybaví převodníkem tlaku spojeným s infúzní kanylou zavedenou do močového měchýře, průtokovou sondou zavedenou do distální části močové trubice a spojenou s průtokoměrem, načež se provede infúze solným roztokem do močového měchýře, aby se vyvolalo močení, přičemž se zaznamenává tlak v močovém měchýři a průtok jako funkce času, **vyznačující se tím, že** se také hlodavcům zavedou elektrody, které se připevní na svaly spodní části močového traktu, přičemž se snímá elektrická aktivita svalů současně s tlakem v močovém měchýři a průtokem moči.
10. Způsob podle nároku 9, kde svaly jsou vypuzovač, krček močového měchýře a příčně pruhovaný sval rhabdosfinkretu.
11. Způsob podle nároku 10, kde se signály tlaku v močovém měchýři, průtoku moči a elektrické aktivity vypuzovače, krčku močového měchýře a svalu svěrače močové trubice převedou do naprogramovaného počítače a případně se zobrazí.

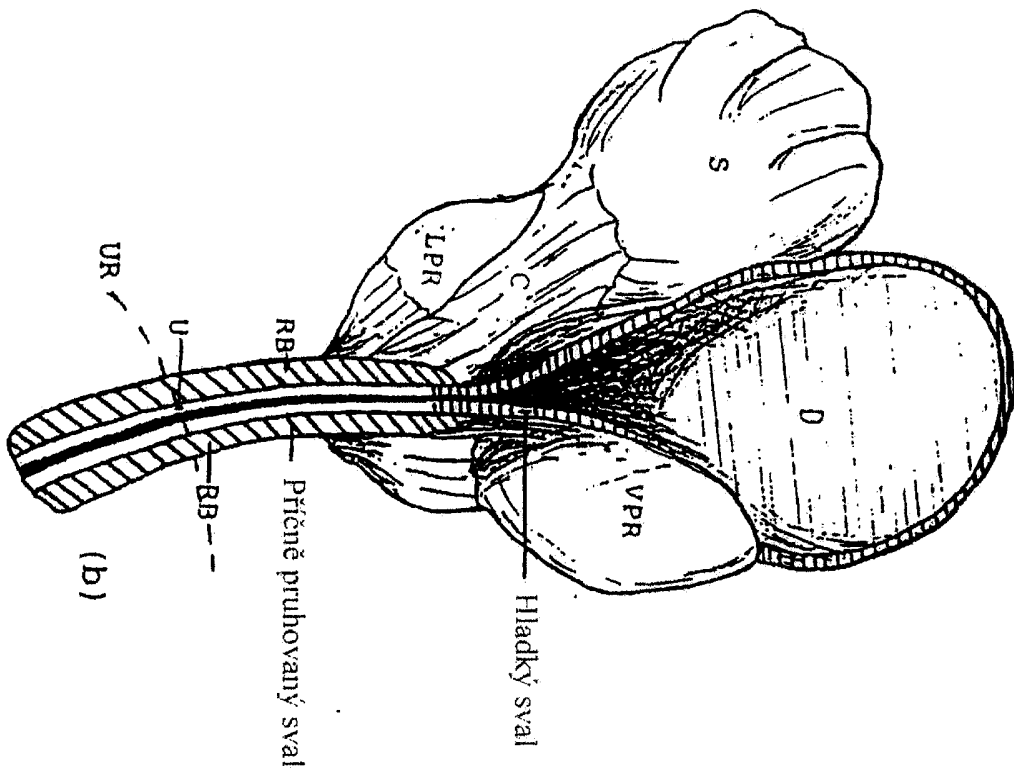
12. Způsob podle nároku 9, kde se hlodavcům podá látka, jejíž vliv na močové funkce hlodavců má být zkoumán.
13. Způsob podle nároku 9, kde se indukuje dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice u hlodavců, načež se jim podá látka jejíž vliv při léčbě dyssynergie vypuzovače a svěrače močové trubice má být zkoumán.



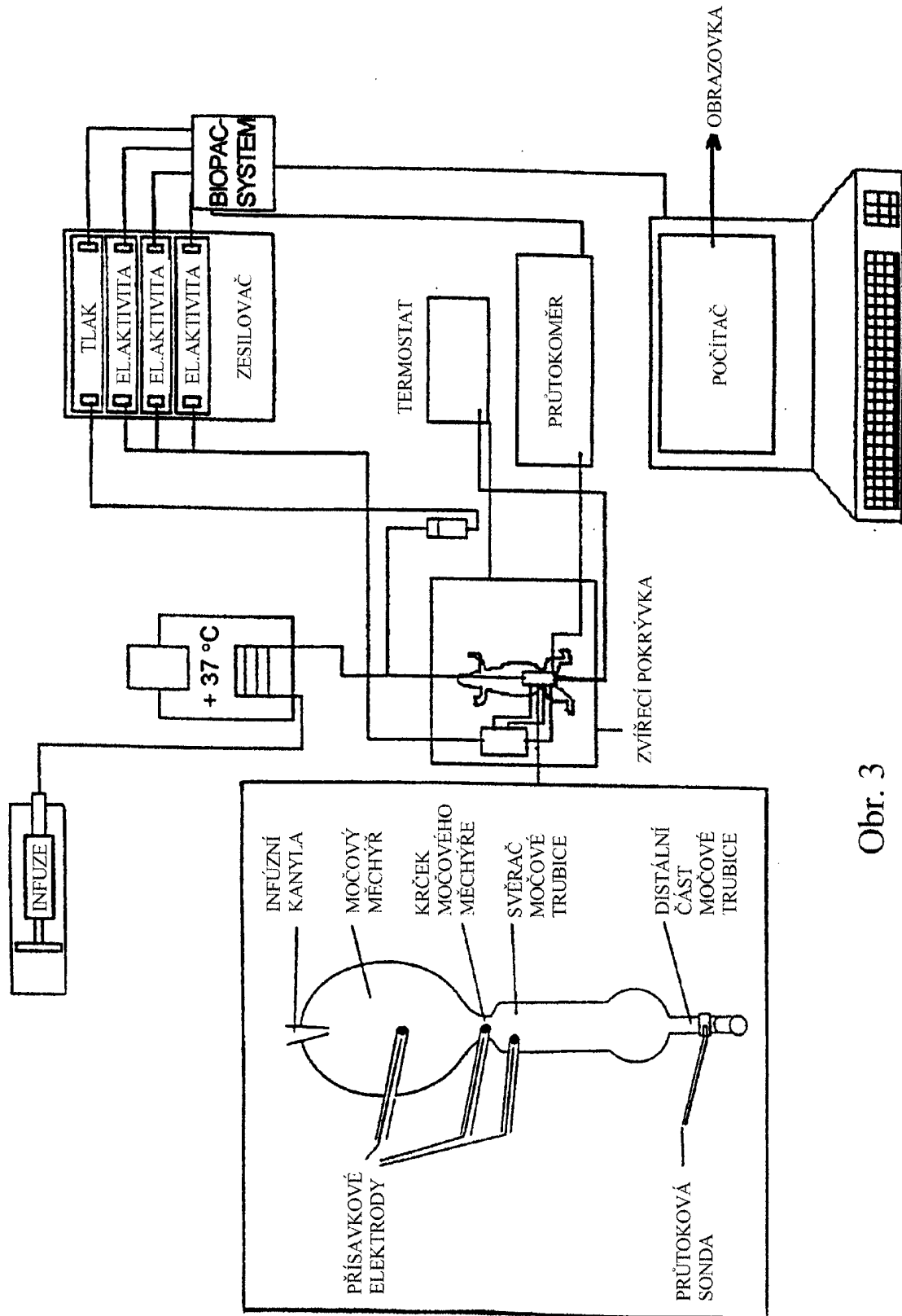
Obr. 1



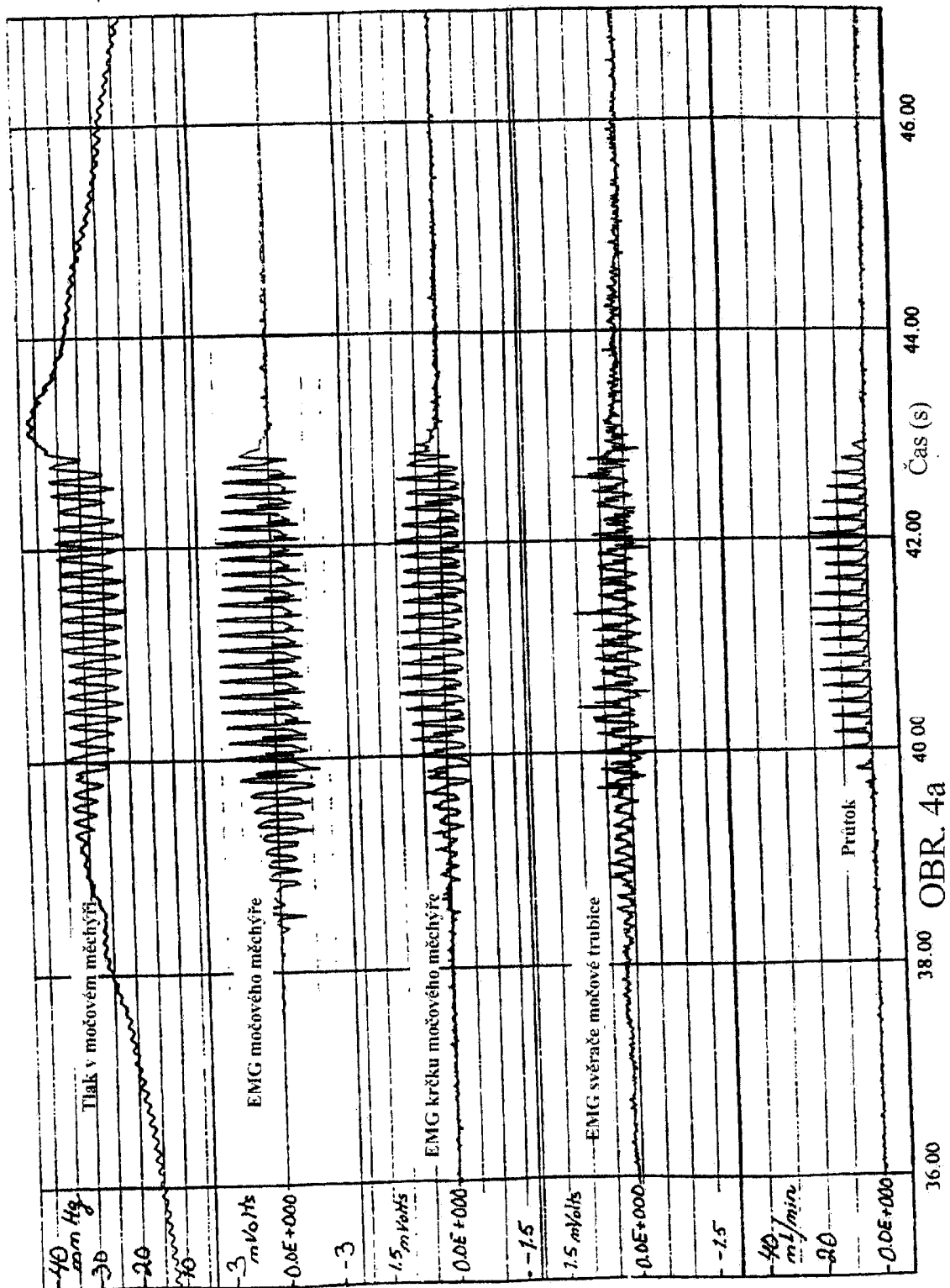
Obr. 2a

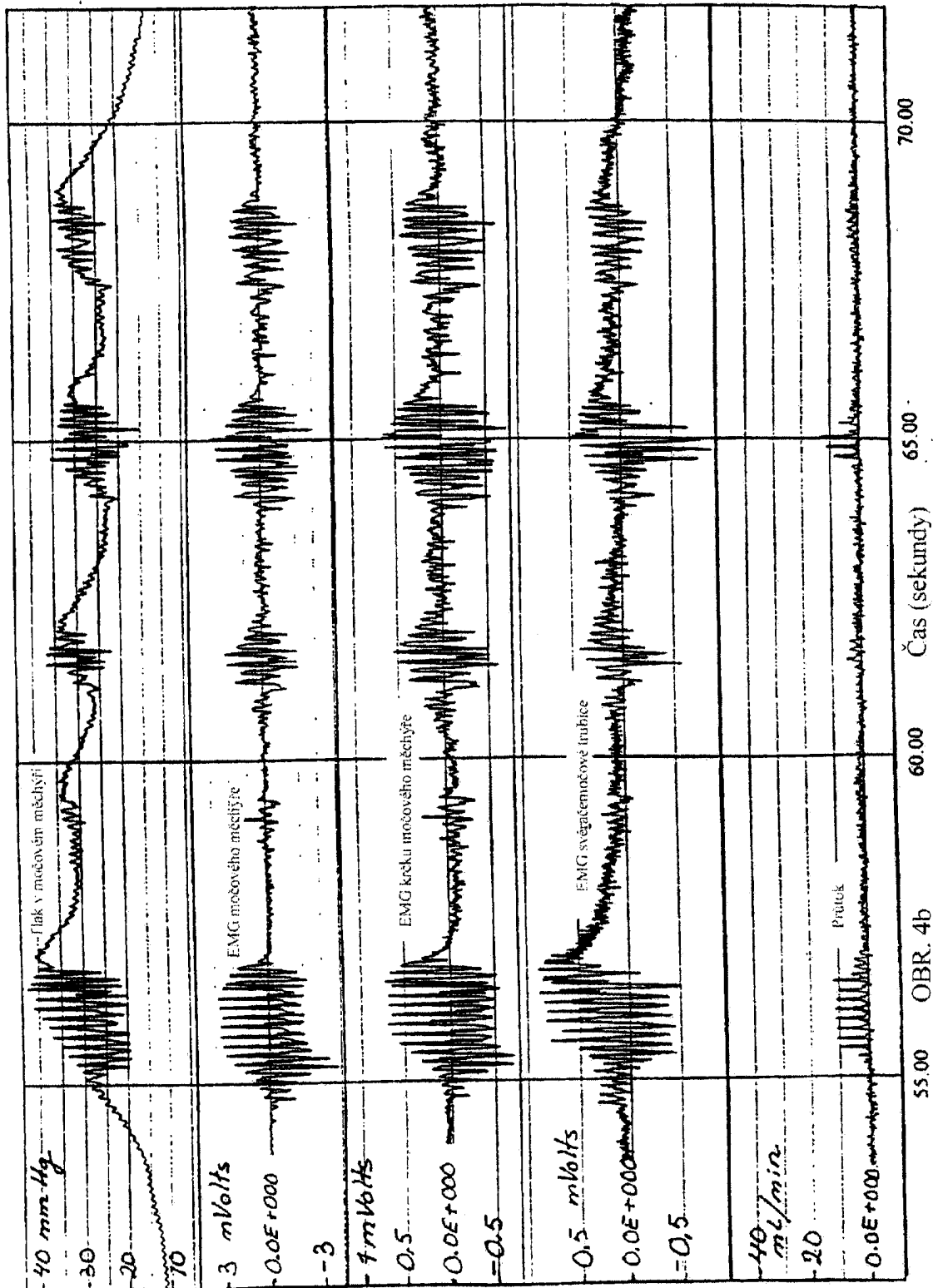


Obr. 2b



Obr. 3



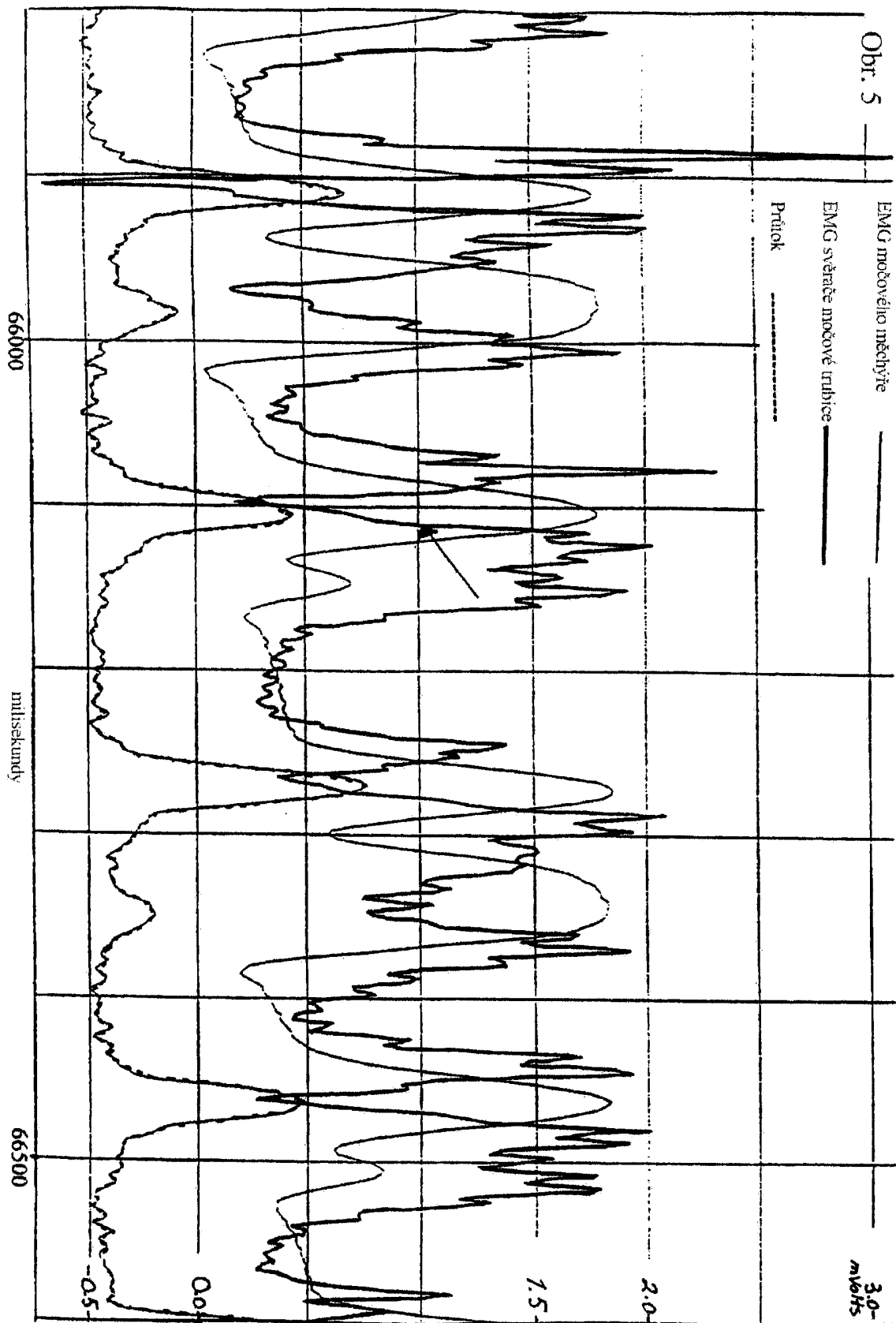


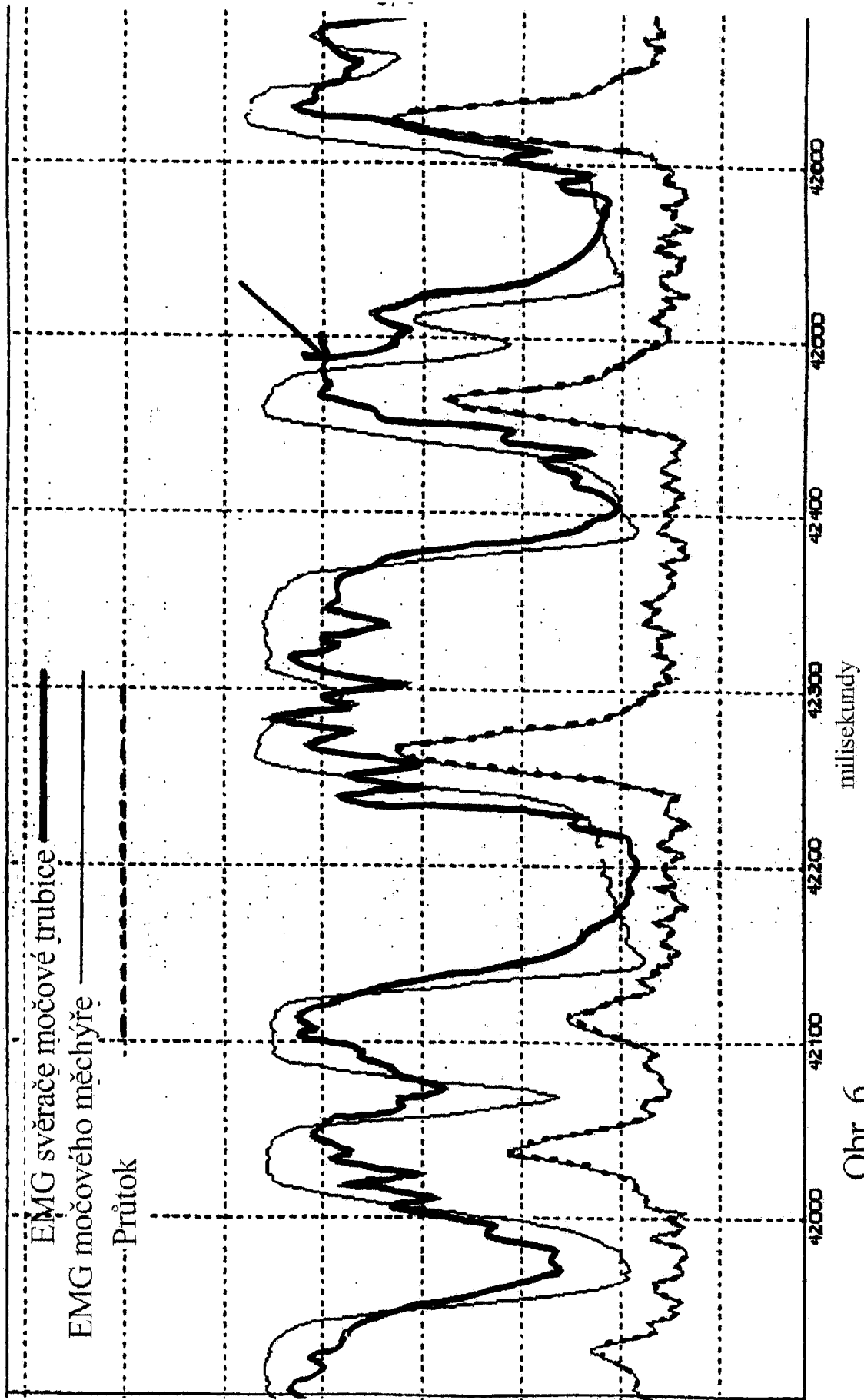
22.08.00

31

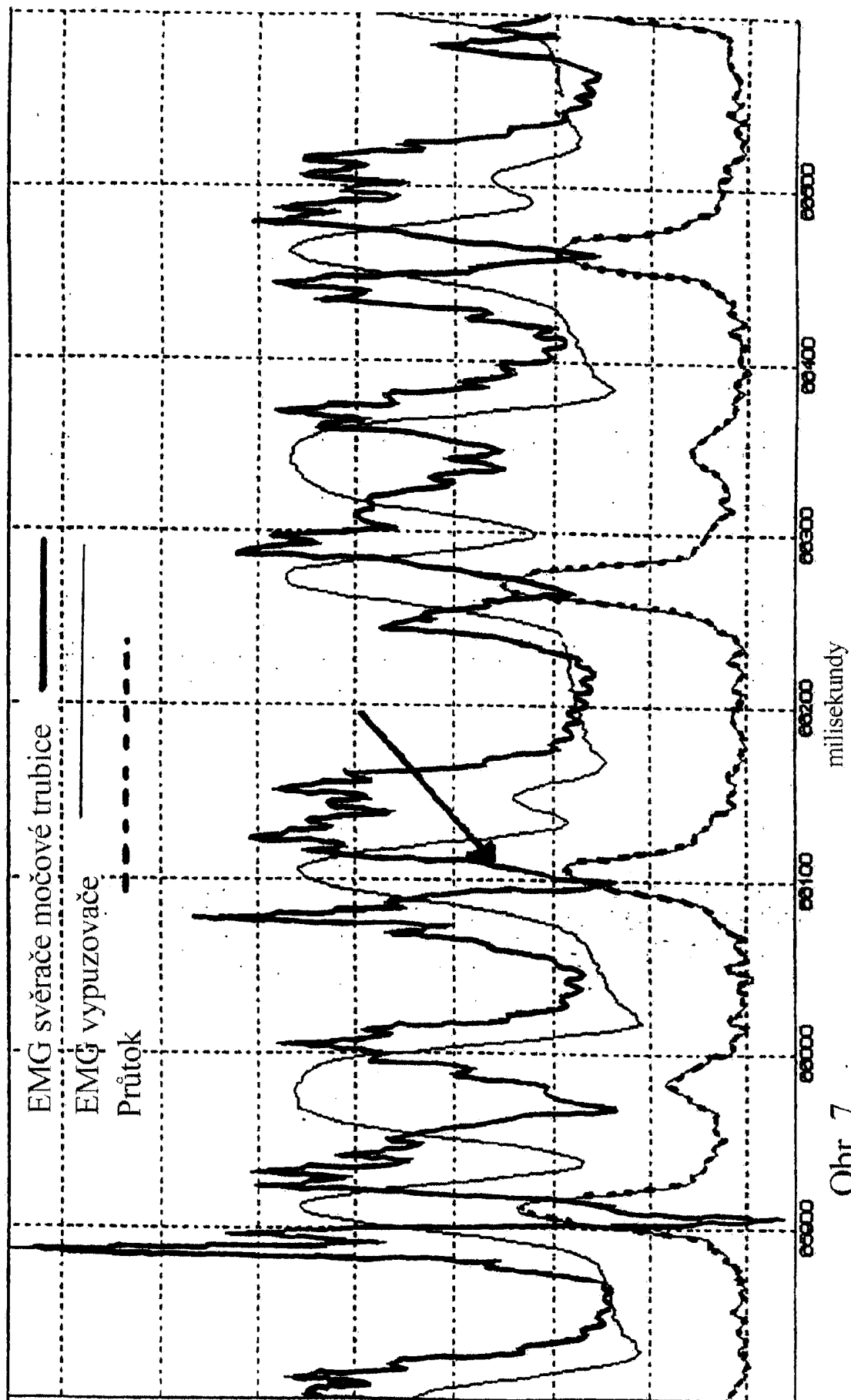
6/8

PV 2000 - 2138





Obr. 6



Obr. 7