



MD 1432 C2

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1432⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.⁷: A 61 K 38/00
A 61 P 19/10

(12)

BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: 96-0323 (22) Data depozit: 1995.02.02 (31) Nr.: 08/191,631 (32) Data: 1994.02.04 (33) Țara: US</p>	<p>(44) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului cu examinarea in fond: 2000.03.31, BOPI nr. 3/2000 (85) 1996.09.04 (86) PCT/US95/01479, 1995.02.02 (87) WO 95/20972; 1995.08.10</p>
<p>(71) Solicitant: THE MEDICAL COLLEGE OF HAMPTON ROADS, US (72) Inventatori: HODGEN, Gary, D., US; WILLAIMS, Robert, F., US; GROW, Daniel, US (73) Titular: THE MEDICAL COLLEGE OF HAMPTON ROADS, US (74) Mandatar: Babak Alexandr, MD</p>	

(54) Metodă de tratament al stării dependente de estrogenii ovarieni
(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină și anume la ginecologie.

Esența invenției constă în aceea că în administrarea analogului hormonului, ce eliberează gonadotropina, timp de cel puțin 30 de zile, în cantitate suficientă pentru reducerea nivelului de estrogene circulante în sânge până la circa 20 pg/ml, suplimentar se administrează anti-progestină

2
intr-o cantitate suficientă pentru menținerea acțiunii antiproliferative și păstrarea țesutului osos.
Rezultatul este reducerea osteoporozei.

Revendicări: 16
Figuri: 3

MD 1432 C2

3

Descriere:

Prezenta invenție se referă la domeniul medicinei, în special la ginecologie și anume la o metodă de tratament al stării dependente de estrogenele ovariene.

5 Endometrioza constituie prezența ectopică extrauterină a glandelor și stromei de tip endometrial. Această prezență ectopică a țesutului endometrial deseori duce la formarea chisturilor, ce conțin sânge modificat. Această stare provoacă dureri extenuante la milioane de femei în întreaga lume, care apar, în special, în legătură cu proliferarea lunară a țesutului endometrial. Endometrioza deseori devine o stare pe viață.

10 Endometrioza poate fi tratată cu substanțe medicamentoase, însă nici una din ele nu este suficient de eficientă pentru un tratament de lungă durată, timp de 6 luni și mai mult. Posibil, tratamentul cu cea mai lungă istorie, care demonstrează un efect evident, este administrarea progesteronului în injecții, *per os* sau în combinație cu anticoncepționalele orale. Însă administrarea îndelungată a progestinelor, în special, a celor androgene, este însoțită de un șir de efecte secundare indenzirabile și nu este admisă oficial în Statele Unite ale Americii.

15 Este cunoscut steroidul sintetic pe bază de etisteron, și anume 17- α -pregna-2,4-dien-20-ino[2,3-d]izoxazol-17-ol, cunoscut, de asemenea, ca danazol și comercializat ca Danocrină (Danocrine), care se manifestă ca o substanță medicamentoasă eficientă pentru tratamentul endometriozei, prin crearea unui mediu hipoe estrogenic [1,2]. Spre regret, această substanță medicamentoasă, de asemenea, prezintă multiple efecte androgene secundare. În afară de dereglări vasomotorie, cauzate de agravarea fondului estrogenic, ea provoacă creșterea greutatei corporale, crampe de lungă durată, atrofia glandelor mamare, bufeuri de căldură, labilitate emoțională psihică, piele grasă, depresie, edeme, acnee, fatigabilitate; hirsutism; dereglări ale instinctului sexual (libido), cefalee, erupții și afonie.

20 Este cunoscută, de asemenea, una din cele mai eficiente metode de tratament al endometriozei prin administrarea antagonistului hormonului ce eliberează gonadotropină, care inhibă secreția gonadotropinei din hipofiză și astfel induce starea de pseudomenopauză cu caracter reversibil. [3,4,5]. Cu toate că reacțiile individuale variază, endometrioza, de obicei, regresează rapid numai în primele trei luni de la administrarea tratamentului. După sistarea tratamentului, durerile, deseori, revin și endometrioza se manifestă deja peste câteva luni după restabilirea ciclului menstrual normal.

30 Acest remediu poate fi utilizat, de asemenea, pentru tratamentul tumorilor fibroase uterine (leiomiomatoase). Dezavantajul principal al unui astfel de tratament îl constituie prezența unui șir de efecte secundare, cauzate de un hipoe estrogenism grav de lungă durată sau de starea de pseudomenopauză, instalată printr-o insuficiență estrogenă gravă, și anume, bufeuri de căldură, defecte osoase și diminuarea efectului protector cardiovascular al estrogenelor. Într-adevăr, scopul terapiei hormonale substituente este asigurarea organismului cu estrogeni și/sau progestină și, astfel, prevenirea pierderilor de țesut osos. Deși reacțiile individuale variază, pierderile de țesut osos, de regulă, pot fi estimate după cca 3 luni de tratament și devin la persoanele perceptibile destul de semnificative după 6 luni de tratament. Inadmisibilitatea acestui efect secundar, din punctul de vedere al gradului de risc, devine evidentă prin valoarea înaltă a coeficientului letalității de cca 3,2 ani după fracturile oaselor femurale în postmenopauză în urma osteoporozei. Din cauza acestui efect secundar, comisia pe alimentare și substanțe medicamentoase a Statelor Unite interzice orice administrare a analogilor hormonului ce eliberează gonadotropină după ce ei s-au utilizat timp de 6 luni. Astfel, acest medicament nu poate fi din administrat după o pauză, conform normelor stabilite de această comisie.

45 Leiomiomatoamele și endometrioza sunt stări dependente de estrogenele ovariene. Mai este cunoscută antiprogestina (uneori numită "antagonistă a progesteronului" sau "antigestagenă") ca substanță medicamentoasă eficientă în tratamentul endometriozei și leiomiomului uterului.

50 Sindromul premenstrual (SPM) și hemoragiile uterine disfuncționale (HUD), de asemenea, reprezintă stări, pentru care este comună o activitate hormonală ciclică, care rezultă din producerea estrogenelor de către ovare.

55 Mai este cunoscută o metodă, cea mai apropiată de prezenta invenție, de administrare a agonistului hormonului ce eliberează gonadotropină (leiprolidă) și a progestinei (acetatul de medoxiprogesteron) pentru tratamentul leiomiomului uterului [6]. În cadrul tratamentului asociat se remarcă că progestina reversează eficiența hipoe estrogenismului agonist-indus, de reducere a volumului nemiomatos, adică acest tratament împiedică efectele benefice ale tratamentului cu agonist. La utilizarea conform schemei add-back, progestina diminuează bufeurile de căldură și

MD 1432 C2

4

pierderea calciului cu urina, însă se atestă o mărire moderată a volumului total al uterului, însă nu până la valorile inițiale.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în necesitatea unor metode eficiente de tratament al stărilor dependente de estrogenele ovariene.

5 In prezent s-a stabilit că schema utilizării analogului hormonului ce eliberează gonadotropină, în combinație cu antiprogestina atenuează stările, dependente de estrogenele ovariene, cum ar fi endometrioza, leiomiomul uterului, SPM și HUD, și, de asemenea, diminuează efectele ce țin de pierderea țesutului osos ca rezultat al reducerii estrogenelor prin administrarea GnRG (hormonul ce eliberează gonadotropină). Respectiv, scopul prezentei invenții îl constituie crearea unei asemenea
10 scheme. Acest și alte scopuri ale prezentei invenții vor fi clare unui specialist din următoarea descriere detaliată.

Metoda, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate anterior prin aceea că în stările dependente de estrogenele ovariene, cum sunt endometrioza, leiomiomul uterin, SPM și/sau HUD, se administrează analogul hormonului ce eliberează gonadotropina, timp de cel puțin 30 de zile, suficiente pentru reducerea nivelului de estrogen, care circulă în ser, până la cca 20 pg/ml sau sub
15 acest nivel și apoi a unei cantități antiproliferative, în raport cu endometriumul, de antiprogestina, care menține substanța osoasă.

Surprinzător se relevă că se atenuează nu numai simptomele endometriozei, SPM, HUD sau miomului, însă se reduc și pierderile de țesut osos, cauzate de insuficiența estrogenică, se neutralizează și, în unele cazuri, în genere, se reversează. Toleranța schemei de tratament și durata
20 tratamentului pot fi majorate și astfel se impune utilitatea administrării antiprogestinei mai mult de șase luni. Cu toate că nivelul bazal al estrogenului circulant este mai înalt, în perioada administrării antiprogestinei, comparativ cu nivelul în cadrul terapiei cu agonistul GnRH, nu se relevă o ameliorare evidentă a stării de boală, în timp ce densitatea țesutului osos se menține sau crește.

25 Neridicând aceasta la rangul de teorie, se presupune că există diverse praguri ale efectului estrogenelor, astfel că după prima reducere a nivelului estrogenelor apare "o fereastră" cu o concentrație mai înaltă, în timpul căreia nivelul estrogenului circulant exercită un efect terapeutic benefic și starea generală se ameliorează, însă aceeași concentrație nu induce pierderea rapidă a substanței osoase, astfel masa osoasă se menține la nivelul precedent sau chiar crește.

30 Hormonul ce eliberează gonadotropină reprezintă o micropolipeptidă, produsă de hipotalamus și uneori se numește hormon ce eliberează gonadotropină, hormonul ce eliberează hormonul luteinizant, GnRH sau LHRH. Orice analog, fie antagonist sau agonist al acestei polipeptide, poate fi utilizat în prezenta invenției.

Exemplele de antagoniști includ Antid (Antide, decapeptidă reprezentată prin formula D-Ac-D-
35 2-Nal¹-Dp Cl Phe²-D-3-Pal³-Sar⁴-NiLis⁵-D-NicLis⁶-Leu⁷-ILis⁸-Pro⁹-D Ala¹⁰); [Ac-D₄ Cl Phe¹, D₄ Cl D Phe², D Trp³ DArg⁶; DAla⁴⁰] GnRH; [Ac-4CIDPhe³; D₃Pal³; Arg⁷ D₂ Nal⁶ DAla¹⁰] GnRH; [Ac-D₂-Nal¹, 4CIDPhe², DTrp³, DArg⁶, DAla¹⁰] GnRH; [Ac-D₂Nal¹; 4FDPh², DTrp³; DArg⁶] GnRH; [Ac-D₂Hal¹; 4CIDPhe²; DTrp³, DhArg(Et₂)⁶; DAla¹⁰] GnRH și [Ac [-Nal¹; DME⁴ClPhe², DPAl³; Ser⁴, Tir²; DArg⁶; Leu⁷; ILis⁸; Pro⁹-DAla¹⁰] GnRH. [US 4409208; US 4547370; US 4565804; US
40 4569927; US 4619914; US 5198533; WO 89/01944].

Exemplele de agoniști ai hormonului ce eliberează gonadotropină includ leiprolidă, nafarelină, buzerilină, [DALa⁶, des-Gli-NH₂¹⁰] GnRH; [DLis⁶] GnRH; [DALa⁶] GnRH; [2-Me-Ala⁶] GnRH; [D-d-aminobitiroil⁶, des-Gli-NH₂¹⁰] Gn RH; triporelină; lutrelină; gozerelină, histrelină etc.

45 Analogii hormonului ce eliberează gonadotropină, utilizați în prezenta invenție, se pot administra sub formă de săruri netoxice farmaceutic acceptabile sau compuși complecși. Sărurile includ săruri de adiție cu acizi cum ar fi, de exemplu, hidrociorură, hidrobromură, sulfat, fosfat, nitrat, oxalat, fumarat, gluconat, tanat, maleat, acetat, benzoat, succinat, alginat, malat, ascorbat, tartrat, etc. Compușii complecși se pot forma cu metale, de exemplu, cu zinc, bariu, calciu, magneziu, aluminiu, etc.

50 Modul de utilizare a releasing-hormonului gonadotrop sau analogului acestuia conform invenției, este similar celui cunoscut anterior în tratamentul endometriozei și/sau leiomiomului uterin. Astfel, poate fi administrat nu numai orice analog al GnRH cunoscut, dar pot fi utilizate în practica prezentei invenții și dozele acestora și modalitățile de administrare a lor. Astfel, calea de administrare poate fi orice cale uzuală, în care acest analog este activ, de exemplu, perorală,
55 intravenoasă, subcutanată, intramusculară, sublingvală, transdermală, rectală, intranasală sau intravaginală.

În funcție de aceasta, formularea medicamentoasă poate fi reprezentată în tabletă, drajeu, capsulă, pilulă, aerosol intranasal, aerosol; granulă; implant (sau alt gen de depo) etc.

MD 1432 C2

5

Cantitatea de analog al hormonului ce eliberează gonadotropină, care se administrează trebuie să fie suficientă pentru reducerea nivelului estrogenelor circulante până la cca 20 pg/ml sau sub acest nivel spre sfârșitul perioadei de cca 1-6 luni și este similară celei, ce se practică în prezent. În linii generale, cantitatea poate varia aproximativ de la 0,05 la 50 mg, de preferință, de la cca 0,5 la 10 mg zilnic. Determinarea dozei eficiente este o procedură obișnuită în domeniul farmacologiei, care ia în considerație diverși parametri fizici, cum ar fi greutatea corporală, vârsta, etc., și în mod excelent se stabilește de către medicul curant. Administrarea poate fi periodică, de exemplu, o dată pe lună sau îndelungată, de exemplu, zilnic. De preferință este administrarea zilnică, deoarece pacientele vor respecta cu o mai mare probabilitate schema de administrare și nu vor uita sau nu vor evita schema de administrare periodică.

De asemenea, e comodă administrarea depo-formelor, cum ar fi acetat de leiprohidă, comercial accesibilă ca marcă comercială Lupron Depot.

Antiprogestina pentru combinarea cu agonistul sau antagonistul GnRH poate fi antagonistul receptorilor progesteronului sau un agent farmaceutic potrivit, care se opune activității biologice normale a progesteronului. Antiprogestina preferată este antagonistul receptorilor progesteronului, atât steroid, cât și nesteroid, care demonstrează o anumită capacitate de reducere a secreției estrogenelor, însă mai important, blochează stimularea estrogenă a tropismului tisular, cum ar fi endometrioza, atât ectopic, cât și uterin sau a țesutului leiomiomului. De exemplu, RU 486 este deosebit de potrivit în practica prezentei invenții.

Exemplele de antiprogistine, care se pot utiliza în prezenta invenție includ RU 486 ("mefipristone") și "onapristonă" și steroizii, în special, lilepristona (11,3-(4-dimetilaminofenil)-17-β-hidroxi-17-α-(3-hidroxi-prop-1(z)-enzil-4,9-(10)-estadien-3ona); în special, compuși 11-β-(4-acetilfenil)-17-β-hidroxi-17-α-(1-propinil)-4,9-estradien-3-ona și 11-β-(4-acetilfenil)-17-β-hidroxi-17-α-(3-hidroxi-1-(2)-propenil)-4,9-estradien-3-ona; și alte antiprogistine [US 4386085 (Roussel Uclaf, Paris); US 4780461 (Schering Ag, Berlin); US 4609651; US 06/827050; US 07/283632; EP-A 04042831; PCT WO 91/14704; US 4891368].

Antiprogestina poate fi administrată prin orice mod, care se practică în farmacologie. De exemplu, antiprogestina poate fi formulată pentru administrare orală, subcutanată, intramusculară, transbucală, sub formă de emplastru dermal pentru absorbție transdermală, și, de asemenea, în matrice inertă, care se plantează în organism sau în depo-forme sau intravaginal în matrice, care lent eliberează antiprogestina [US 4957119; US 5088505].

Compozițiile farmaceutice ce conțin antiprogestina și un purtător potrivit, pot fi în forme dozate solide, care includ tablete, capsule, capsule de amidon, granule, pilule, prafuri sau globuli; forme dozate pentru aplicare topică (locală) ce includ soluții, prafuri, emulsii lichide, suspensii lichide, forme semisolide, unguente, paste, creme, geluri sau jeleuri și spume; forme dozate pentru administrare parenterală ce includ soluții, suspensii, emulsii sau praf uscat, o cantitate eficientă de antiprogestina conform prezentei invenții. Este cunoscut că ingredientul activ, antiprogestina, poate fi inclus în așa compoziții împreună cu diluanți, agenți de umplură, dezintegranti, lianți, lubrifianți, surfactanți, purtători hidrofobi, purtători hidrosolubili, emulgatori, tamioane, umectanți, emolienți, solubilizanți, conservanți și alți agenți farmaceutic acceptabili, care ameliorează proprietățile formei medicamentoase.

Dispozitivele și metodele de administrare sunt bine cunoscute și un specialist poate consulta, pentru informare, ghiduri farmacologice ["Modern Pharmaceutics", Banker and Rhodes Marcel Dekker; Inc. 1979; "Goodman and Gilman's The Pharmaceutical Basis of Therapeutics", ed. 6, Mac Millan Publishing Co., New York, 1980].

În unele cazuri administrarea analogului hormonului ce eliberează gonadotropină și a antiprogistinei poate coincide. În acest caz aceste două componente se pot introduce concomitent, utilizând una și aceeași sau diferite forme dozate sau dispozitive, de exemplu, o singură tabletă. Utilizarea componentelor, compozițiilor sau metodelor prezentei invenții pentru uz medical și/sau farmaceutic, care este descris în acest text, se poate realiza prin orice metodă sau modalitate clinică, medicală sau farmaceutică, care sunt cunoscute în prezent, sau vor fi cunoscute în viitor.

Analogul hormonului ce eliberează gonadotropină se poate administra timp de, cel puțin, 30 de zile, ceea ce este suficient pentru reducerea nivelului estrogenului circulant în sânge până la cca 20 picograme la ml sau sub acest nivel și, de preferință, pentru reducerea nivelului estrogenului, ce circulă în sânge până la cel puțin cca 10 picograme/ml și sub acest nivel, imitând astfel nivelurile estrogenului în postmenopauză. În prezent, administrarea analogului se sistează după cca 6 luni, cu toate că se poate prelungi, dacă se începe la timp administrarea cantității de antiprogestina, care

MD 1432 C2

6

menține substanța osoasă. Durata preferată de administrare a agonistului GnRH, în prezent, constituie cca 3 luni.

Administrarea antiprogesterinei se începe, când nivelul estrogenelor circulante scade până la 20 pg/ml și sub acest nivel, și, de preferință, până la cca 10 pg/ml și mai jos. Perioada administrării antiprogesterinei se poate suprapune cu perioada de administrare a analogului hormonului ce eliberează gonadotropină sau se poate începe după sistarea administrării analogului GnRH sau poate fi o pauză între intervalele de administrare, până când nivelul estrogenului circulant se menține nu mai sus de cca 20 pg/ml. Cantitatea de antiprogesterină este aceea, care inhibă proliferarea estrogenă a endometrului, adică o cantitate antiproliferativă eficientă, însă mai este, de asemenea, și o cantitate eficientă ce menține țesutul osos. În acest context, menținerea țesutului osos înseamnă că masa osului (densitatea) se menține sau se majorează. În cazul în care se administrează antiprogesterina RU 486, această cantitate, de obicei, constituie de la cca 0,05 la 10,0 pg/ml și, de preferință, de la 0,5 la 5,0 pg/ml zilnic. În cazul unor alte antiprogesterine, pot fi potrivite alte cantități în miligrame. Schemele în care doza de antiprogesterină (și de analog al GnRH) periodic se modifică, de asemenea, se includ în limitele volumului prezentei invenții. De asemenea, în timp ce se administrează o cantitate antiproliferativă eficientă de antiprogesterină, se pot observa hemoragii periodice ușoare sau câteva picături de sânge lunar sau anual. Așadar, starea de amenoree (absența menstruațiilor), care se instalează la aplicarea tratamentului conform prezentei invenții, este esențială, însă nu neapărat totală, completă. Cantitatea de antiprogesterină, ca și în cazul analogului hormonului ce eliberează gonadotropină, care trebuie să fie administrată, se determină prin metode standard, cum ar fi, de exemplu, determinarea curbelor doză - răspuns la primat, la care ciclul menstrual ovarian congenital este similar ciclului la femei; extrapolarea rezultatelor sistemelor potrivite *in vitro* și determinarea eficienței în testările clinice. La determinarea dozelor potrivite medicul va avea în vedere greutatea corporală, vârsta și alți parametri fizici și medicali.

25 Rezultatul este reducerea osteoporozei.

Prezența invenției se explică prin desenele din figurile ce urmează:

Fig. 1, graficul nivelurilor diurne medii ale estradiolului;

Fig. 2, graficul endometriozei peritoneale în diverse scheme de tratament;

Fig. 3, graficul densității substanțelor minerale în oase ca rezultat al aplicării diverselor scheme de tratament.

30 În scopul ilustrării prezentei invenții în continuare sunt prezentate exemple specifice. Evident că aceste exemple sunt numai ca material ilustrativ și nu preconizează limitarea volumului prezentei invenții.

35 *Exemplul 1.* Pentru acest studiu s-a selectat ca agonist al GnRH acetat de leiprolidă, ca antiprogesterină - RU 486, care se administrează femelelor maimuțelor *Cynomolgus*, care, după cum se știe, sunt modele potrivite pentru studiile privind ființa umană.

36 de maimuțe femele *Cynomolgus (Macaca fascicularis)* cu cicluri menstruale regulate au fost plasate în cuști separate cu hrană și apă din belșug.

40 Utilizând anestezia (cetamină 20 mg/kg, i/m, xilazină 1 mg/kg) în ziua a 3-a a ciclului menstrual s-a efectuat laparoscopia diagnostică pentru excluderea bolii aderențiale a bazinului sau prezenței endometriozei. Maimuțele cu aderențe pronunțate ale cavității bazinului au fost excluse din studiu. În zilele 8-14 ale ciclului menstrual s-a colectat sânge prin venepuncție (cetamină 10 mg/kg, i/m) și s-a examinat în ser, prin analiza radioimună, conținutul de estradiol - 17 β. În ziua a 45 3-5-a după instalarea vârfului preovulator al estradiolului s-a efectuat laparotomia (cetamină 20 mg/kg, xilazină 1 mg/kg). S-a efectuat histerotomia fundală - 2 cm și cca 100 mg de endometru s-a înlăturat prin chiuretaj și s-a triturat în soluție fiziologică sterilă. Incizia uterului s-a suturat cu suturi de vicril 4-0. Țesutul endometrial triturat s-a injectat subperitoneal în 5 sectoare, și anume, în plica vezicouterină stângă și dreaptă, în ligamentul larg drept și stâng și în fundul sacului.

50 Pe parcursul următorului ciclu menstrual s-a efectuat laparotomia în ziua a 3-5-a după propulsia estradiolului în mijlocul ciclului. S-a constatat prezența țesutului endometrial ectopic și aderențe vaste, implanturile peritoneale s-au măsurat minuțios. Toate leziunile s-au fotografiat și prin metodă oarbă s-a colectat o anumită cantitate pentru determinarea histologică a stadiului endometriozei de către un specialist independent. Din leziunile tipice (specifice) s-a prelevat un biopsat și țesutul s-a 55 fixat în formalină 10% pentru examenul histologic prin colorare cu hematoxilină și eozină.

Primatele au fost distribuite egal în patru loturi experimentale (nr.8). Animalelor din primul lot li s-a administrat lunar în injecții agonistul hormonului ce eliberează gonadotropină, în doză de 80 μg/kg, i/m, în ziua a 21-a a ciclului menstrual în ciclul de laparotomie secundă.

MD 1432 C2

7

La intervale de 28 de zile au fost efectuate 3 astfel de injecții, apoi s-a administrat, o dată pe săptămână, în injecții, antiprogestina RU 486 (5 mg/kg, i/m, în ulei, inițial, apoi câte 2 mg/kg o dată pe săptămână). RU 486 s-a administrat timp de 24 săptămâni.

5 Animalelor din lotul II li s-a administrat în injecții numai RU 486 (inițial 5 mg/kg, apoi 2 mg/kg o dată pe săptămână), începând cu prima zi a ciclului menstrual după confirmarea diagnozei de endometrioză. Administrarea s-a continuat timp de 36 de săptămâni. Animalelor din lotul III li s-a administrat numai analogul Gn RH timp de 36 de săptămâni. Animalelor din lotul IV, el servind drept martor, li s-a administrat un purtător - 0,5 ml de soluție fiziologică i/m o dată pe săptămână timp de 36 de săptămâni.

10 După începutul injecțiilor zilnice s-a efectuat laparotomia pentru determinarea stadiului procesului, fiecare 12 săptămâni, până la sfârșitul seriei de tratament pentru evaluarea progresiunii sau regresiei bolii.

În fiecare lot sub anestezie cu cetamină, peste o zi, s-a colectat sange timp de 28 de zile după inițierea seriei de tratament, ce urma după confirmarea diagnozei de endometrioză activă. Serul s-a congelat pentru analiză ulterioară. În continuare sângele s-a colectat o dată pe săptămână. 15 Colectarea sangelui s-a continuat până la restabilirea menstruațiilor spontane sau până la două luni după finalizarea seriei de injecții, în funcție de ce avea loc în primul rand. Serul s-a congelat, s-a marcat și s-a depozitat pentru analiza radioimună ulterioară. Estradiolul și progesteronul s-au determinat prin analiza radioimună (ICN Biomedical, Los-Angeles, USA).

20 Epiteliul vaginal s-a prelevat în timpul fiecărei intervenții chirurgicale cu pensă pentru biopate Kevorchian de pe peretele lateral din două treimi superioare ale vaginului.

Maimuțele s-au examinat zilnic în timpul vizitei matinale. Se remarcau modificările comportamentale. Se examina pielea pentru a determina prezența erupțiilor sau modificărilor inflamatorii în locul injecției. Prezența menstruației se determina prin examenul perineului. 25 Greutatea corporală se determina lunar și se relevau modificările apetitului.

Simultan cu fiecare colectare a sangelui se colecta și urina pentru analiză. Prima mostră se colecta în timpul primei laparotomii, mostra secundă - în timpul primei injecții, iar următoarele se colectau peste fiecare patru săptămâni, începând cu colectarea mostrei secunde. Pentru determinarea densității minerale a substanței osoase în regiunea lombară a coloanei vertebrale s-a utilizat 30 absorbtometria radiologică dublă (DXA, Norland).

Animalele s-au anesteziat cu cetamină și s-au fixat pentru a minimaliza artefactele, care pot apărea la mișcare. DXA s-a efectuat până la începutul seriei de injecții și apoi la intervale de trei luni după finalizarea investigației.

În timpul fiecărei laparotomii se efectua histerotomia mică repetată pentru prelevarea 35 endometrului pentru examenul histologic.

S-a relevat că atât antiprogestina, cât și analogul GnRH, separat, inhibau ovularea. Timp de 24 de luni, documental, a fost fixată câte o singură ovulare (progesteron > 3 ng/ml) în primele 3 loturi, comparativ cu cele 18 ovulări evidente timp de 24 de luni în lotul martor (numai purtător). Nivelurile tonice medii de estradiol în ser erau diferite în loturi, așa cum este prezentat în fig. 1. 40 Lotul în care s-a administrat analogul GnRH era suprimat mai omogen ($24,2 \pm 17$ ng/ml), comparativ cu lotul martor, în care nivelurile estrogenelor variau în limite destul de vaste ($40,6 \pm 43$ pg/ml), așa cum se aștepta. Interesant că în lotul în care s-a administrat RU 486 se relevă un nivel mediu de estradiol în sange mai înalt, comparativ cu celelalte loturi ($57,8 \pm 34,6$, Kruskal - Wallis, $p < 0,05$).

45 Aria endometrului ectopic, care se remarca pe suprafețele peritoneale, este prezentată în fig. 2. Ariile leziunilor până la începutul tratamentului în toate loturile erau identice (ANOVA, $p > 0,1$).

Aria leziunii după tratament se deosebea semnificativ de aria până la începutul tratamentului în primele trei loturi și de aria după tratament în lotul IV - lotul martor (Wilcoxon, $p < 0,05$). Aceasta atestă că atât analogul GnRH, cât și antiprogestina exercită o influență de limitare a dimensiunilor 50 implantelor endometriale. În lotul I, în care animalelor li se administra RU 486 peste 3 luni după sistarea seriei de tratament cu analogul GnRH, aria medie a leziunilor peritoneale rămânea neschimbată.

Tabelul 1

Rezultatele determinării densității osului prin absorbtometria radiologică dublă

Lotul	Până la tratament (media \pm CO)	După 3 luni	După 6 luni
Analog/antiprogestina	0.481 \pm 0.046	0.481 \pm 0.056	0.049 \pm 0.046
Antiprogestina	0.501 \pm 0.029	0.541 \pm 0.033*	abs.

MD 1432 C2

8

Martor	0.441 ± 0.028	0.446 ± 0.047	abs.
--------	-------------------	-------------------	------

* t — criteriu par, $p = 0,08$, comparativ cu densitatea până la tratament.

MD 1432 C2

9

După trei luni de administrare numai a GnRH sau a purtătorului, drept martor, densitatea substanței osoase nu s-a modificat. Aceasta se și aștepta, deoarece statistic pierderea țesutului osos în populație nu devine evidentă până la 3-6 luni. La trei animale din primul lot se releva pierderea țesutului osos după 3 luni de tratament cu analogul GnRH, în timp ce la celelalte animale el rămânea neschimbat sau se majora. Exemplu de animal, care a avut pierderi rapide de țesut osos este maimuța 2190, datele referitoare la acest caz sunt prezentate în fig.3. E evident gradul semnificativ al pierderii țesutului osos după 3 luni de tratament cu analogul GnRH. Tratamentul cu antiprogesterină previne această pierdere, relevându-se majorarea densității substanței osoase în limitele semnificației (t - criteriul par, $p = 0,08$) după 3 luni de tratament cu antiprogesterină. Evaluarea zilnică a stării subiective a prezentat modificări nesemnificative comportamentale la animale, leziuni inflamatorii ale pielii și modificarea deprinderilor alimentare. Determinarea greutatea corporale la intervale de o lună nici într-un lot nu a relevat modificării semnificative.

Estimarea histologică a epitelului endometrului și vaginal prin colorare cu hematoxilină și eozină se prezintă în modul ce urmează:

Tabelul 2

Lotul	Endometrul		Epiteliu vaginal și cheratină
	Faza menstruală	Grosimea	
Numai cu analog	proliferativă neactivă precoce	subțire	subțire
Cu analog/antiprogesterină	faza intervalului, statică	subțire moderat	gros moderat
Martor	ciclică	gros moderat, variabil	ciclic

Sub influența analogului GnRH, endometrul era uniform subțire și cu proliferație nesemnificativă. Endometrul, sub influența antiprogesterinei se prezenta mai subțire, comparativ cu endometrul la maimuțele din lotul martor, însă se afla permanent în faza intervalului, similară cu ziua a 17-a a ciclului menstrual normal tipic. La primatele din lotul martor se relevă endometru ciclic, mai gros în toate zilele, în care se efectua biopsia, comparativ cu animalele din orice lot. Grosimea epitelului vaginal, a stratului de cheratină și a stratului reticular până la baza excrescențelor era mai pronunțată în lotul, în care animalele erau tratate cu antiprogesterină, comparativ cu animalele din lotul tratat cu analogul GnRH. În lotul martor rezultatele se deosebeau, însă stratul de cheratină era mai gros decât după tratamentul cu analogul GnRH.

Leziunile ectopice ale endometrului, cum ar fi endometru *in situ*, regresau treptat timp de 3 luni de tratament, și modificările endometrului se începeau mai precoce la tratamentul cu analogul GnRH, comparativ cu tratamentul exclusiv cu antiprogesterină. Rezultatele menționate atestă că antiprogesterina este capabilă să mențină suprafața redusă de endometrioză peritoneală după întreruperea tratamentului cu analog. Endometrioza la animalele din lotul martor nu se ameliorează și, într-adevăr, leziunile endometriale se agravează progresiv timp de 3 luni.

La 3 primate incluse în studiu avea loc o pierdere rapidă de substanță minerală osoasă după inițierea hipostrogenismului indus cu medicamente prin tratament cu analogul GnRH. Densitatea osului revine la starea inițială după 3 luni de tratament cu antiprogesterină. În general, la primarele tratate cu antiprogesterină se relevă o majorare a densității osului la limitele semnificației statistice, comparativ cu cea inițială. Atrofia vaginală, problemă în cadrul tratamentului cu analogii hormonului ce elimină gonadotropină, nu se relevă. Grosimea epitelului vaginal și stratului de cheratină era mai semnificativă în lotul de animale tratate cu antiprogesterină, stare care, de obicei, asigură o facilitare a realizării actului sexual, reduce incontinența de urină și disuria. În plus la avantajele care influențează oasele și epitelul vaginal, endometrul persistă moderat subțire, comparativ cu maimuțele netratate din lotul martor, și cu un ciclu menstrual menținut, și aceasta se lămurește prin acțiunea antiproliferativă a antiprogesterinei.

MD 1432 C2

10

Tabelul 3

Exemplele 2–10. Schema descrisă în exemplul 1 s-a repetat cu următoarea combinație a agenților:

Exemplul	Analogul	Antiprogestina
2	nafarefină	Onapriston
3	buzerelină	Lilopriston
4	antid	11 β -(4-acetil-fenil)-17 β -hidroxi-17 α -(1-propinil)-4,9-estradien-3-onă
5	gozereelină	11 β -(4-acetil-fenil)-17 β -hidroxi-17 α -(3-hidroxi-1(2)-propenil)-4,9-estradien-3-onă
6	istrelină	mifepriston
7	lutrelină	onapriston
8	tristorelină	lilopriston
9	Na1-Glu	mefepriston
10	azalină B	mefepriston

5

În prezenta invenție pot fi incluse diverse schimbări și modificări fără derogare de la ideea și volumul ei. Diversele variante de realizare a prezentei invenții, descrise și ilustrate în acest document, prezintă un model și nu limitează prezenta invenție.

10

(57) Revendicări:

- 15 Metodă de tratament al stării dependente de estrogenii ovarieni, care prevede administrarea analogului hormonului, ce eliberează gonadotropina, **caracterizată prin aceea că** analogul hormonului, ce eliberează gonadotropina se administrează timp de cel puțin 30 de zile în cantitate suficientă pentru reducerea nivelului de estrogeni circulante în sânge până la circa 20 pg/ml sau sub acest nivel, suplimentar administrându-se antiprogestina într-o cantitate suficientă pentru menținerea acțiunii antiproliferative și păstrarea țesutului osos.
- 20 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** administrarea analogului și progesterinei este periodică.
- 3 Metodă, conform revendicării 2, **caracterizată prin aceea că** administrarea este zilnică.
- 4 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** administrările analogului și antiprogesterinei coincid.
- 25 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** administrările analogului și antiprogesterinei nu coincid.
- 6 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** analogul se administrează timp de maxim șase luni.
- 7 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** analogul reprezintă un agonist al hormonului ce eliberează gonadotropina.
- 8 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** analogul reprezintă un antagonist al hormonului ce eliberează gonadotropina.
- 9 Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** analogul hormonului ce eliberează gonadotropina se administrează timp de o perioadă suficientă pentru reducerea nivelului estrogenilor circulante până la circa 10 pg/ml sau sub acest nivel.
- 35 10. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** antiprogestina reprezintă un antagonist al receptorilor progesterinei.
- 11 Metodă, conform revendicării 10, **caracterizată prin aceea că** antiprogestina reprezintă mifepriston.
- 40 12. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** cantitatea de antiprogestina este suficientă pentru stabilizarea stării de amenoree.
13. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** starea dependentă de estrogenii ovarieni reprezintă endometrioza.
- 45 14. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** starea dependentă de estrogenii ovarieni reprezintă leiomiom uterin.

MD 1432 C2

11

15. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** starea dependentă de estrogenele ovariene reprezintă sindrom premenstrual.

16. Metodă, conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** starea dependentă de estrogenele ovariene reprezintă disfuncție hemoragică uterină.

5

(56) Referințe bibliografice:

1. Chwalisz et al, Endocrinology, 1991, vol. 129, nr. 1, p. 312
2. Kettel et al., Fertil. Steril., 1991, vol. 56, nr. 3, p. 402
3. Murphy et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 1993, vol. 76, nr. 2, p. 513
4. Gravanis et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 1986, vol. 60, p. 156
5. Wolf et al., Fertil. Steril., 1989, vol. 52, p. 1055
6. Case et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 1993, vol. 76, p. 1217

Șef direcție:

JOVMIR Tudor

Examinator:

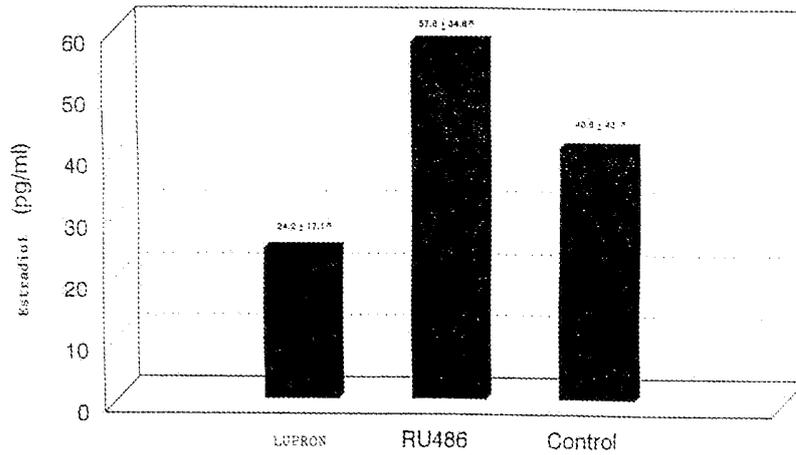
TIMONIN Alexandr

Redactor:

ANDRIUȚĂ Victoria

MD 1432 C2

12



Toate grupele sunt diferite ($p < 0,05$)

Fig. 1

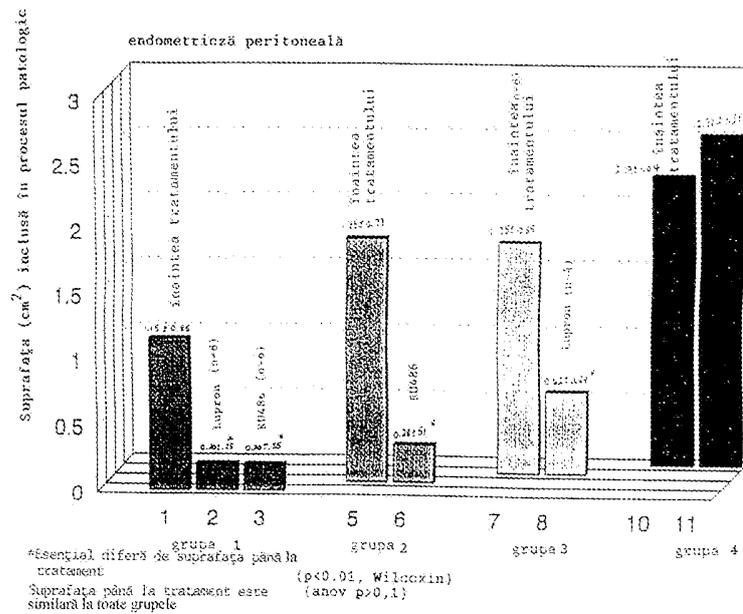


Fig. 2

MD 1432 C2

13

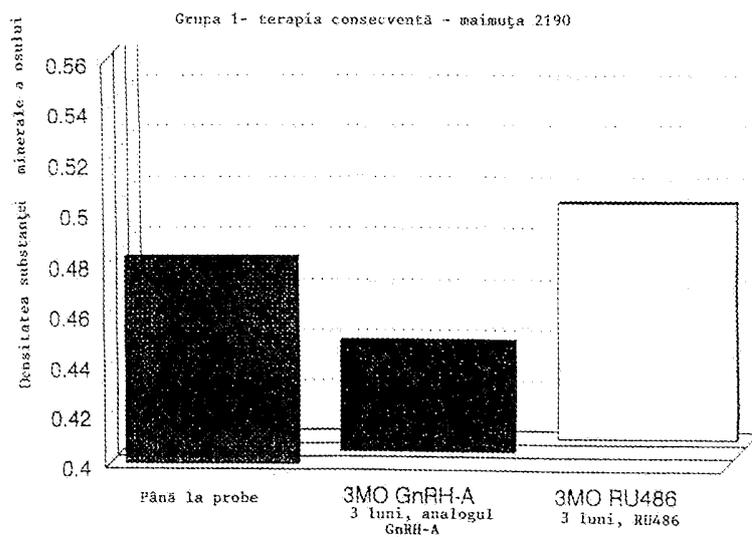


Fig. 3

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: 96-0323	(85) Data fazei naționale PCT: 04.09.1996
(22) Data depozit: 02.02.1995	(86) Cerere internațională PCT: PCT/US95/01479, 02.02.1995
(1) nr.: 08/191,631 32) data : 04.02.1994 33) țara: :US	
(54) Titlul : Metodă de tratament al stării dependente de estrogenii ovarieni	
Termeni caracteristici în limba română: gonadotropin	
II. D O C U M E N T A R E ÎN LITERATURA DE BREVETE DE INVENȚII	
Indicii clasificărilor de brevete :	
(51) Int. Cl.: A61K 38/00	
MD Perioada: 1994-1999	Brevete: n-a fost selectat
	Cereri publicate: n-a fost selectat
	Cereri nepublicate: n-a fost selectat
	Certificate MU: n-a fost selectat
BEA Perioada:1996-1999	Brevete: n-a fost selectat
	Cereri: n-a fost selectat
	Rapoarte de documentare: n-a fost selectat
Data 20.09.1999	Examinator Timonin Alexandr