

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

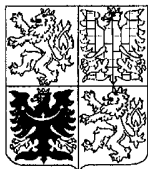
(21) Číslo dokumentu:

**1999 - 2806**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09.02.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **15.02.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/800737**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.01.2000**  
(Věstník č. 1/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US98/02267**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/35676**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 61 K 31/445**

**A 61 K 31/16**

**A 61 P 15/08**

(71) Přihlašovatel:

EDELSTAM INC., Lake Oswego, OR,  
US;

(72) Původce:

Edelstam Greta, Saltsjo-Duvnas, SE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,  
140 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Lék proti neplodnosti a ke zvýšení plodnosti**

(57) Anotace:

Současné řešení se týká použití lokálního anestetika pro výrobu léku, který se používá proti neplodnosti nebo ke zvýšení plodnosti. Také se týká farmaceutické sloučeniny, která obsahuje farmaceuticky účinnou dávku lokálního anestetika společně s farmaceuticky přijatelným vehikulem. Také se týká postupu ke zvýšení plodnosti u žen pomocí zmíněné farmaceutické sloučeniny.

## Lék proti neplodnosti a ke zvýšení plodnosti

### Oblast techniky

Současný vynález se týká využití lokálního anestetika k výrobě léku proti neplodnosti a ke zvýšení plodnosti. Také se týká farmaceutické sloučeniny, která se skládá z farmaceuticky účinné dávky lokálního anestetika s farmaceuticky přijatelným vehikulem. Také se týká způsobu zvýšení plodnosti u žen pomocí zmíněné farmaceutické sloučeniny.

### Dosavadní stav techniky

Neplodnost nebo snížená plodnost je pro postižené lidi problémem. IVF (oplození ve zkumavce) je běžným způsobem léčby u neplodných žen. Podstata IVF léčby je následující:

Stimulace ovulace: denní hormonální injekce, vyšetření ultrazvukem a krevní testy.

Odběr vajíček: v místní anestézii provedený odběr přes pochvu punkcí vaječníku za ultrazvukové kontroly.

Příprava spermií: plavící nebo jiná metoda k výběru optimální populace s nejlepší pohyblivostí.

Oplodnění ve zkumavce: Inkubace vajíček a vybrané populace spermií v buněčném inkubátoru. Přímá mikroskopická kontrola buněčného dělení a výběr nejvíce životaschopných blastocytů.

Přenos embrya: 2-3 nejvíce životaschopných blastocytů se umístí do dutiny děložní a doufá se, že se uhnízdí ve sliznici děložní.

IVF léčba je drahým způsobem léčby a u některých párů vyvolává psychologické vedlejší účinky. Technický a umělý způsob pokusu o otěhotnění má pro pár, který tuto léčbu podstupuje nevýhody, které mohou mít vliv i na vzájemný vztah. Po dokončení namáhavé léčby je těhotenský poměr pouze 25 až 30 % a zanechává ty, kteří neuspěli s narušeným vzájemným vztahem a stále bezdětné. Náklady na IVF léčbu jsou 20 000 až 25 000 SEK na jeden menstruační cyklus.

Navzdory několika předchozím výzkumům není zřejmý ani důvod neplodnosti u endometriózy ani to, že nedochází ke zvýšení plodnosti po její léčbě. Zvláště je nejasný vztah mezi mírnou endometriózou a sníženou plodností tam, kde nejsou přítomny pánevní srůsty (Mahmood, TA, Templeton A. *Patophysiology of mild endometriosis: review of literature. Human Reproduction* 1990; 5:765-784).

U pacientek se slizničními implantáty na pobřišnici se nachází zvýšený počet bílých krvinek v dutině břišní a považuje se za probíhající sterilní zánět. (Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB: *Peritoneal fluid cell population in infertility patients. Fertil Steril* 1981, 35:696-698; Edelstam GAB, Lundkvist OE, Venge P, Laurent TC: *Hyaluronan a myeloperoxidase in the peritoneal fluid during genital inflammation. Inflammation* 1994, 18:13-21). Zvýšený počet bílých krvinek obsahuje in vivo senzibilizované makrofágy, které secernují růstový faktor odvozený od makrofágů (MDGF) a to může vysvětlovat proliferaci tkáně sliznice děložní. (Halme J, White C, Kauma S, Estes J, Haskill S. *Peritoneal macrofages from patients with endometriosis release growth factor activity in Vitro. J Clin Endocrin and Metabolism.* 1988; 66: 1044-49). Další sekreční produkty makrofágů, růstové faktory jako je TNF a interferon, se vyznačují toxicitou pro pohlavní buňky a mají také nežádoucí vliv na proces oplodnění (Halme J: *Role of peritoneal inflammation in endometriosis-associated infertility. Ann NY Acad Sci* 1991; 622:266-74).

Také břišní tekutina bez buněk je důležitá u snížené plodnosti a bylo prokázáno, že snižuje významně schopnost vláken vejcovodů dopravovat vajíčko. (Suginami H, Yano K, Watanbe K, Matsnura S: *A factor inhibiting ovum capture by the oviductal fimbriae present in endometriosis peritoneal fluid. Fertil Steril* 1986; 46:1140-1146). V břišní tekutině u pacientek s endometriósou a nevysvětlitelnou neplodností byla zjištěna snížená rychlost pohybu spermií (Makarand K, Oak M, Chantler EN, Vaughan Williams CA, Elstein M. *Sperm survival studies in peritoneal fluid from infertile women with endometriosis and unexplained infertility. Clinical reproduction and fertility* 1985; 3:297-303). Ještě zajímavější je, že byla zjištěna zvýšená fagocytóza spermií během 24 hodinové inkubace ve zkumavce s břišní tekutinou od pacientek s endometriózou. (Muscato JJ, Haney AF, Weingerg JB, *Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: a possible cause of infertility in endometriosis. Am J Obstet Gynecol*

1982; 144; 503-510). V této speciální studii bylo použito sperma od různých dárců a proto nelze opomenout i imunologické faktory.

### Podstata vynálezu

Současný vynález je alternativním způsobem k IVF léčbě plodnosti u žen. Studiemi ve zkumavkách bylo zjištěno, že lidokain snižuje fagocytózu spermií. Lze předpokládat, že tento účinek lidokainu je způsoben stabilizací buněčné membrány, tím, že brání zvýšené propustnosti pro sodík a pravděpodobně ovlivňuje ATP v buněčné membráně. Náklady na tuto léčbu budou činit přibližně 10 % oproti IVF léčbě, např. 2 500 SEK na jeden menstruační cyklus. Není zde žádný technický postup oplodnění, který by mohl způsobit psychologické vedlejší účinky. Tato léčba se může vyzkoušet u pacientek s endometriózou a/nebo nepatrnou mechanickou příčinou neplodnosti. Může být provedena v době, kdy se čeká na IVF a nemá žádný vliv na možnost pozdější úspěšné IVF léčby.

Léčba neplodnosti pomocí lidokainu není doposud v literatuře publikována. Nicméně jsou známé další farmaceutické účinky lidokainu. Např. v EP 507 160, kde se uveřejňuje přípravek k zevní aplikaci na kůži, kde lidokain je obsažen v přídržné vrstvě umístěné na nosiči. Tento preparát se používá k léčbě neuralgií u pásového oparu a postherpetických neuralgií.

### Stručný popis obrázků

V obrázcích použitý výraz „endometr“ znamená endometriózu a „end-prob“ znamená předpokládanou endometriózu.

Obrázek 1 znázorňuje schematicky počet volných spermií, které se nacházejí každý jednotlivý den po inkubaci: s buněčným médiem (A, kontrola), s buněčným médiem a lidokainem (B), s břišní tekutinou (C, kontrola), a břišní tekutinou a lidokainem (D).

Obrázek 2 znázorňuje schematicky počet progresivně se pohybujících spermii, které se nacházejí každý jednotlivý den po inkubaci: s buněčným médiem (A, kontrola), s buněčným médiem a lidokainem (B), s břišní tekutinou (C, kontrola), a břišní tekutinou a lidokainem (D).

Obrázek 3 znázorňuje schematicky počet neprogresivně ale pohybujících se spermii, které se nacházejí každý jednotlivý den po inkubaci: s buněčným médiem (A, kontrola), s buněčným médiem a lidokainem (B), s břišní tekutinou (C, kontrola), a břišní tekutinou a lidokainem (D).

Obrázek 4 znázorňuje schematicky počet živých ale nehybných spermii, které se nacházejí každý jednotlivý den po inkubaci: s buněčným médiem (A, kontrola), s buněčným médiem a lidokainem (B), s břišní tekutinou (C, kontrola), a břišní tekutinou a lidokainem (D).

Obrázek 5 znázorňuje schematicky počet mrtvých spermii, které se nacházejí každý jednotlivý den po inkubaci: s buněčným médiem (A, kontrola), s buněčným médiem a lidokainem (B), s břišní tekutinou (C, kontrola), a břišní tekutinou a lidokainem (D).

#### Podrobný popis vynálezu

S odkazem na obrázky 1 až 6 použití místních anestetik k výrobě léku pro použití proti neplodnosti nebo ke zvýšení plodnosti. Místní anestetikum se vybírá z látky, která má místně znecitlivující účinek. Příkladem takovýchto látek jsou bupivakain (1-butyl-N-(2,6-dimethylfenyl)-2-piperidinkarboxamid), lidokain (2-(diethylamino)-N-(2,6-dimethylfenyl)acetamid), mepivakain (N-(2,6-dimethylfenyl)-1-methyl-2-piperidinkarboxamid), prilokain (N-(2-methylfenyl)-2-(propylamino)propanamid) a ropivakain ((S)-N-(2,6-dimethylfenyl)-1-propyl-2-piperidinkarboxamid). Mohou se použít i jiná místní anestetika. S výhodou se používá lidokain.

Dalším rysem tohoto současného vynálezu je farmaceutická sloučenina, která se skládá z farmaceuticky účinné koncentrace místního anestetika spolu s farmaceuticky přijatelným vehikulem. Koncentrace je taková, jaká má účinek na neplodnost u ženy nebo jaká zvyšuje plodnost u ženy. O dávce a koncentraci rozhoduje praktický lékař.

Koncentrace účinné látky je alespoň 5  $\mu\text{g/ml}$ . Používá se 100 až 2000  $\mu\text{g}$  v 1 až 20 ml, s výhodou 118  $\mu\text{g}$ . Dávka, která se podává je alespoň 100  $\mu\text{g}$ , zejména však 1000  $\mu\text{g}$ . Sloučenina se s výhodou podává do břišní dutiny, s výhodou přes vejcovody. Místní anestetikum je definováno výše.

Aktivní složka se smísí s vehikuly, které jsou farmaceuticky přijatelné a slučitelné s aktivní složkou vhodnou ke zde uvedenému léčebnému způsobu. Navíc, pokud se požaduje, mohou se použít sloučeniny, které obsahují menší množství pomocných látek, jako jsou zvlhčující a emulgační látky, látky upravující pH a podobné, které zvyšují účinnost aktivní složky.

Farmaceutická sloučenina současného vynálezu zahrnuje i farmaceuticky přijatelné soli zde uvedených sloučenin. Farmaceuticky přijatelné soli zahrnují přídatné soli kyselin, které jsou tvořeny s anorganickými kyselinami jako je např. kyselina chlorovodíková nebo kyselina fosforečná, nebo s organickými kyselinami jako je např. kyselina octová, vinná nebo mandlová.

Fyziologicky přípustné nosiče jsou odborníkům dobře známy. Příkladem tekutých nosičů jsou sterilní vodné roztoky, které již neobsahují žádné přídatné látky k aktivním složkám a vodě, nebo obsahují pufr jako je např. fosforečnan sodný při hodnotě fyziologického pH, fyziologický roztok, nebo obojí, jako např. fyziologický roztok pufovaný fosfátem. Vodné roztoky mohou obsahovat více než jednu pufovací sůl stejně tak soli jako je např. chlorid draselný a sodný, dextrosa, propylen glykol, polyethylen glykol a jiné roztoky.

Sloučeniny mohou také tvořit hyaluronan, což je viskózní látka, jako je např. mravenčanový gel. Hyaluronan umožňuje pomalé uvolňování aktivní látky, což je výhodné pro léčbu podle vynálezu, protože oplodnění může nastat až 24 hodin po ovulaci. Další výhodou je, že hyaluronan má stimulační účinek na spermie (Zimmerman ER, Drobnis E, Robertson KR, Nakajima ST, Kim H: Semen preparation with the Sperm Select system versus washing technique. Fertil Steril 1994; 61: 269-275).

Neploďnost se obecně nepovažuje za nemoc. Vynález také zahrnuje proces léčby neploďnosti u ženy farmaceutickou sloučeninou podle vynálezu, který se vyznačuje tím, že se podává přes vejcovody.

Vynález se hlavně týká kosmetického a neléčebného způsobu léčby neplodnosti nebo zvýšení plodnosti, kde a) je diagnostikována ovulace, b) se podává léčba lokálním anestetikem, jakmile se očekává ovulace podle bodu a).

Léčba se s výhodou provádí přes vejcovody. Následující kroky jsou s výhodou:

Spontánní ovulace: primární léčba během normálního menstruačního cyklu. Stimulace jen u pacientů s anovulačním cyklem a primárně stimulace klomifenem (tablety), která je jednoduchá a levná. je zapotřebí jeden vzorek krve po ovulaci k ověření, že proběhla ovulace během léčebného cyklu.

Test LH (luteinizační hormon): Vzestup LH 24 až 36 hodin před ovulací se diagnostikuje domácím testem ze vzorku moči.

Pertubace: Pokud je LH-test pozitivní podá se lék přes vejcovody např. 10 ml 100  $\mu\text{g/ml}$  lidokainu ve fyziologickém NaCl nebo v Ringerově roztoku během normálního gynekologického vyšetření. Není zapotřebí žádného znecitlivění.

Oplodnění: Žádná umělá léčba. Pár se pokusí dosáhnout těhotenství normálním způsobem pohlavním stykem doma poté, co je podána léčba vejcovody.

Bylo zjištěno, že nejsou přítomny vedlejší účinky na přežívání spermií, což dokazuje, že spermie nejsou ovlivněny lidokainem a to bylo také prokázáno v dalších studiích. (Bennett SJ, Bolton V, Parson J. The effects of lignocaine on human sperm motility. *J Assisted Reprod. & genetics* 1992; 9: 271-3). Zdá se, že totéž platí i pro vajíčka, neboť vysoké hladiny lidokainu byly naměřeny bez jakýchkoliv problémů s oplodněním nebo s fetálním vývojem. (Bailey-Pridham DD, Cook CL, Reshef E, Hurst HE, Drury K, Yussman MA. Follicular Fluid lidocain levels during transvaginal oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1990; 53: 171-173). Nejvyšší hladiny byly 118  $\mu\text{g/ml}$ , což znamená, že dávka 1000  $\mu\text{g}$  lidokainu na inkubaci ve zkumavce by mohla být ředěna např. 100  $\mu\text{g/ml}$  v 10 ml izotonické tekutiny. Tato koncentrace bude použita nyní pro klinické studie úspěšného těhotenství po pertubaci uskutečněné 24 hodin před ovulací k zajištění lepšího přežívání spermií.

Lidokain se používá již mnoho let, aniž byly zaznamenány nežádoucí účinky během těhotenství, jak také bylo prokázáno ve studii na zvířatech. (Ramazzotto J, Curro FA, Paterson JA, Tanner P, Coleman M. Toxicological Assessment of Lidocain in the Pregnant Rat. *J Dent Res* 1985; 64: 1214-1218) a proto je ho možné použít k léčbě neplodnosti u pacientek s endometriózou.

Tento vynález je znázorněn na následujícím příkladu. Veškeré zde použité technické a vědecké pojmy, pokud není jinak definováno, mají stejný význam jako při běžném používání odborníky. Zde použité způsoby jsou dobře známé pro odborníky v daném oboru pokud není určeno jinak. Publikace zde zmíněné jsou zahrnuté v referencích.

### Příklady provedení vynálezu

#### Příklad 1

Redukce fagocytózy spermií v břišní tekutině u žen s endometriózou.

Tato studie byla provedena za účelem další analýzy funkce leukocytů u snížené plodnosti během endometriózy a také za účelem hledání možného léčebného přístupu. Aby se vyloučily imunologické vlivy zúčastnil se pokusů pouze jeden dárcce spermií. Připravené vzorky spermií byly inkubovány s necentrifugovanou břišní tekutinou od zdravých žen a od žen s endometriózou k vyhodnocení významu fagocytózy spermií na sníženou plodnost během endometriózy. Počet životaschopných spermií při inkubaci byl denně počítán po dobu pěti dní s a bez přítomnosti lokálního anestetika, které bylo přidáváno při hledání metody snížení aktivity populací břišních leukocytů.

#### Materiál a metody

##### Pacienti

Ženy: Pacientky byly rozděleny do tří různých skupin. Kontrolní skupina (n=9, průměrný věk = 38,5 let) se skládala z žen, které podstoupily laparoskopickou sterilizaci nebo žen s nejasnými bolestmi břicha. Kontrolní skupiny měly laparoskopický nález v normě s anatomicky normální dělohou a vejcovody.

Studijní skupina obsahovala ženy které podstoupily laparoskopii za účelem zjištění příčiny neplodnosti nebo trpěly bolestmi břicha a byla jim diagnostikována endometrióza (n = 11, průměrný věk = 34,5 roků). V této skupině byla laparoskopická diagnóza u 8 pacientek a anamnestická pravděpodobnost endometriózy u 3 pacientek, u kterých se ale nevyvinul žádný implantát endometriózy, který by mohl být zjištěn laparoskopicky.

Muži: Dárce spermií byl zdravý 38-letý muž s normální plodností s 2-3 denní sexuální zdrženlivostí před každým odběrem vzorku spermií. Vzorky spermií byly připraveny plavící technikou k výběru optimální populace (Russel LD, Rogers BJ. Improvement in the quality and fertilization potential of a human sperm population using the rise technique. J Androl 1987; 8:25).

#### Vzorky peritoneální tekutiny získané při laparoskopii

Vzorky krve byly odebrány poté, co bylo pacientkám podáno anestetikum, k pozdějšímu stanovení hyaluronanu, který se používá jako marker probíhajícího zánětu k vyloučení zánětlivého onemocnění malé pánve. Na začátku laparoskopie s bezpečnými nástroji v břišní dutině byla veškerá dosažitelná peritoneální tekutina v Douglasově prostoru pomocí odsávačky odsávána přes teflonový katétr (průměr 1,7 mm, Optinova, Godby, Finsko) a poté byla tato tekutina promíchána ihned po odběru s 10 IU heparinu / ml v teflonové láhvi. (Olive DL, Weinberg JB, Haney AF. Peritoneal macrophages and infertility: the association between cell number and pelvic pathology. Fertil Steril 1985; 44: 772-777). Množství peritoneální tekutiny bylo zjištěno vážením na elektrických vahách. Teflon byl vybrán jako materiál, který vykazuje nízkou přilnavost k buňkám savců. (Grinnell F, Milam M, Srere PA. Studies on cell adhesion. Arch Biochem Biophys 1972; 153: 193-198). Byl použit heparin jakožto protisrážlivá látka, aby se zabránilo shlukování bílých krvinek. (Makarand et al. 1985) Dříve se používat citrát (Edelstam et al. 1994), který měl nežádoucí účinky na životaschopnost spermií při inkubaci. Všechny vzorky byly odebrány se souhlasem pacientů a proces se vzorky byl schválen etickou komisí, Lékařská fakulta, Univerzita v Uppsale, Švédsko.

#### Inkubace spermií a peritoneální tekutiny

Pro všechny inkubace viz níže, které byly prováděné ve vlhkém buněčném inkubátoru, byly použity teflonové zkumavky:

- a) buněčné médium (1 ml), spermie ( $10^6$  v 1 ml buněčného média) a 0,1 ml NaCl.
- b) buněčné médium (1 ml), spermie ( $10^6$  v 1 ml buněčného média) a 0,1 ml lidokainu 10 mg/ml (Xylocain®, ASTRA).
- c) spermie ( $10^6$  v 1 ml buněčného média), peritoneální tekutina (1 ml) a 0,1 ml NaCl.

d) spermie ( $10^6$  v 1 ml buněčného média), 0,1 ml lidokainu (10 mg/ml) a peritoneální tekutina (1ml).

Earlovo buněčné médium (Sigma) s 0,35 % BSA (hovězí sérový albumin)

Zbývající část peritoneální tekutiny byla centrifugována a supernatant zamražen ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) pro následné stanovení hyaluronanu. (Edelstam a kol. 1994) Zkumavky byly analyzovány denně po dobu pěti dní a následující parametry byly měřeny ve všech A až D inkubacích až do počtu 100 spermií:

počet volných spermií, které nepřilnuly k bílým krvinkám

počet spermií s progresivní pohyblivostí

počet spermií s neprogresivním pohybem

počet spermií, které jsou nehybné, ale živé

počet mrtvých spermií

Také bylo denně stanoveno procento životaschopných peritoneálních bílých krvinek při použití trypanové modři.

### Výsledky

Bylo především zjištěno, že ve zkumavkách, které byly inkubovány s peritoneální tekutinou a lidokainem, bylo statisticky významně méně fagocytovaných spermií ( $p < 0,02$ ). Spermie byly zachyceny ve velkých shlucích bílých krvinek a některé byly zjevně fagocytovány a tím byl snížen počet volných funkčních spermií.

Přežívání spermií s a bez endometriózy: Po dvoudenní inkubaci bylo zjištěno statisticky významně více volných spermií při inkubaci s peritoneální tekutinou od normální skupiny ve srovnání se skupinou s endometriózou. (Kruskal Wallis  $p < 0,014$ ).

Přežívání spermií s a bez lidokainu: Nebyly zjištěny žádné nežádoucí účinky na přežívání spermií a nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi inkubací spermií s nebo bez lidokainu po 24 nebo 48 hodinách. Hodnoty  $p$  (Wilcoxon) jsou znázorněny v tabulce I a II.

Přežívání spermií s a bez peritoneální tekutiny a lidokainu, bez ohledu na diagnózu: Progresivní pohyblivost se snižují mnohem více bez přítomnosti peritoneální tekutiny (obrázek 2) ve srovnání s inkubací spermií samotných.

Přežívání spermií s a bez peritoneální tekutiny ve skupině s endometriózou: Za přítomnosti peritoneální tekutiny a lidokainu bylo zjištěno statisticky významně více

volných spermií, zvláště po dvoudenních inkubacích u skupiny s endometriózou. Viz obrázek 1 a tabulka II.

Bylo zjištěno více mrtvých spermií při inkubacích s lidokainem u obou diagnostikovaných skupin. Obrázek 5, tabulka II.

Koncentrace hyaluronanu v peritoneální tekutině nevykazovaly žádné známky probíhajícího zánětlivého procesu, tzn. že bylo potvrzeno, že všichni pacienti byli zdraví.

Tabulka č. 1: P-hodnoty pro různé parametry zapisované během inkubací při porovnávání inkubací s a bez lidokainu. Údaje po 24 hodinové inkubaci.

	Spermie ± lidokain	Spermie + peritoneální tekutina, normální, ± lidokain	Spermie + peritoneální tekutina, endometrióza ± lidokain	Všichni pacienti bez určité diagnózy ± lidokain
volné, nepřilnuté k bílým krvinkám	—————	všechny volné s i bez lidokainu	0,59	0,27
progresivní pohyblivost	0,88	0,046(a)	0,67	0,11
neprogresivní pohyblivost	0,59	0,59	0,79	0,58
stacionární	0,76	0,40	0,31	0,18
nepohyblivé (mrtvé)	0,28	0,14	0,09	0,024(b)
životaschopnost bílých krvinek	—————	0,26	0,29	0,92
spermie přilnuté na povrch bílých krvinek	—————	žádné přilnuté na povrch bílých krvinek v obou skupinách	0,68	0,80

a) více progresivní pohyblivost spermií při inkubaci s lidokainem

b) více mrtvých ve skupině s lidokainem

Tabulka II: : P-hodnoty pro různé parametry zapisované během inkubací při porovnávání inkubací s a bez lidokainu. Údaje po 48 hodinové inkubaci.

	Spermie ± lidokain	Spermie + peritoneální tekutina, normální, ± lidokain	Spermie + peritoneální tekutina, endometrióza ± lidokain	Všichni pacienti bez určité diagnózy ± lidokain
volné, nepřilnuté k bílým krvinkám	_____	1,0	0,018 (d)	0,0021(d)
progresivní pohyblivost	Žádná progresivní pohyblivost s a bez lidokainu	1,00	0,89	0,95
neprogresivní pohyblivost	0,18	0,025 (c)	0,21	0,021 (c)
stacionární	0,78	0,26	0,58	0,22
nepohyblivé (mrtvé)	0,50	0,038 (c)	0,003 (c)	0,00025 (c)
životaschopnost bílých krvinek	_____	0,78	0,51	0,57
spermie přilnuté na povrch bílých krvinek	_____	1,00	0,53	0,63

c) více s lidokainem

d) více volných ve skupině s lidokainem

Tento vynález obsahuje vliv lidokainu na přežívání spermií a účinek na fagocytózu spermií bílými krvinkami břišní dutiny ve zkušence během inkubace po dobu 5 dní. Tato studie zahrnuje pouze jednoho dárce spermií, aby se zabránilo různým imunologickým kombinacím, které by byly nekontrolovatelným faktorem v pokusech. Tato studie také sleduje přežívání spermií až do doby pěti dnů, zatímco předchozí studie zkoumaly přežívání spermií po dobu 24 hodin. Dále nebyl počítán pouze počet volných nepohlčených spermií, ale také počet, kolik vykazovalo progresivní nebo stacionární pohyblivost, stejně tak jako počet živých, mrtvých nebo volných (tzn. nepřilnutých na povrch bílých krvinek) spermií.

V tomto vynálezu byly potvrzeny předchozí nálezy, které popisuje Muscato a kol. 1982 a týkají se snížené plodnosti u pacientek s endometriózou na podkladě pohlcování spermií. Zvýšená kapacita pohlcování peritoneálních makrofágů u pacientek s endometriózou byla také prokázána pomocí fluorescenčních kuliček. (Samejima T, Masuzaki H, Ishimaru T, Yamabe T. Activity of Peritoneal Macrophages in Endometriosis. Asia Oceania J Obstet Gynaecolo 1989, 15: 175-181).

Další studie, které se týkají pohlcování spermií, neberou v úvahu problém se ztrátou bílých krvinek, které přilnou více na jiný materiál (Grinell et al. 1972). Makarand a kol. 1985 použil skleněnou nádobu k uskladnění peritoneální tekutiny. Sklo vykazuje největší přilnavost bílých krvinek (Grinell et al. 1972) a používá se k oddělování makrofágů (Smedsroed B, Pertoft H. Preparation of pure hepatocytes and reticuloendothelial cells in high yield from a single rat liver by means of Percoll centrifugation and selective adherence. J Leukocyte Biol. 1985; 38). Muscato a kol. v roce 1989 si vybral polypropylen, který je lepší možností než sklo z hlediska problému s přilnavostí buněk, ale méně vhodný než teflon.

Předpokládá se, že zjištěné větší množství mrtvých spermií při inkubaci s lidokainem, je důsledkem sníženého pohlcování spermií za přítomnosti lidokainu, vzhledem k tomu, že při inkubaci samotných spermií s a bez lidokainu nebyly zjištěny žádné nežádoucí účinky na spermie. Takto se také vysvětluje nález zvýšené neprogresivní pohyblivosti spermií při inkubaci s lidokainem (Obrázek 2). Tato redukce progresivní pohyblivosti bez přítomnosti peritoneální tekutiny nasvědčuje tomu, že peritoneální tekutina obsahuje látky nezbytné pro zachování funkcí spermií.

Jak je již uvedeno v úvodu vlákna vejcovodů jsou nepřetržitě zvlhčovány peritoneální tekutinou. což v případě pacientek s endometriózou snižuje kapacitu zachytit vajíčko. (Suginami et al. 1986). Jak ukazuje tato i předchozí studie bílé krvinky v peritoneální tekutině pacientek s endometriózou jsou více účinné při pohlcování spermií. (Muscato a kol. 1982). Proto mohou být u žen s endometriózou dva faktory, které se podílí na jejich snížené plodnosti. Tato studie také ukazuje možnost využití účinku lidokainu ke snížení pohlcování spermií.

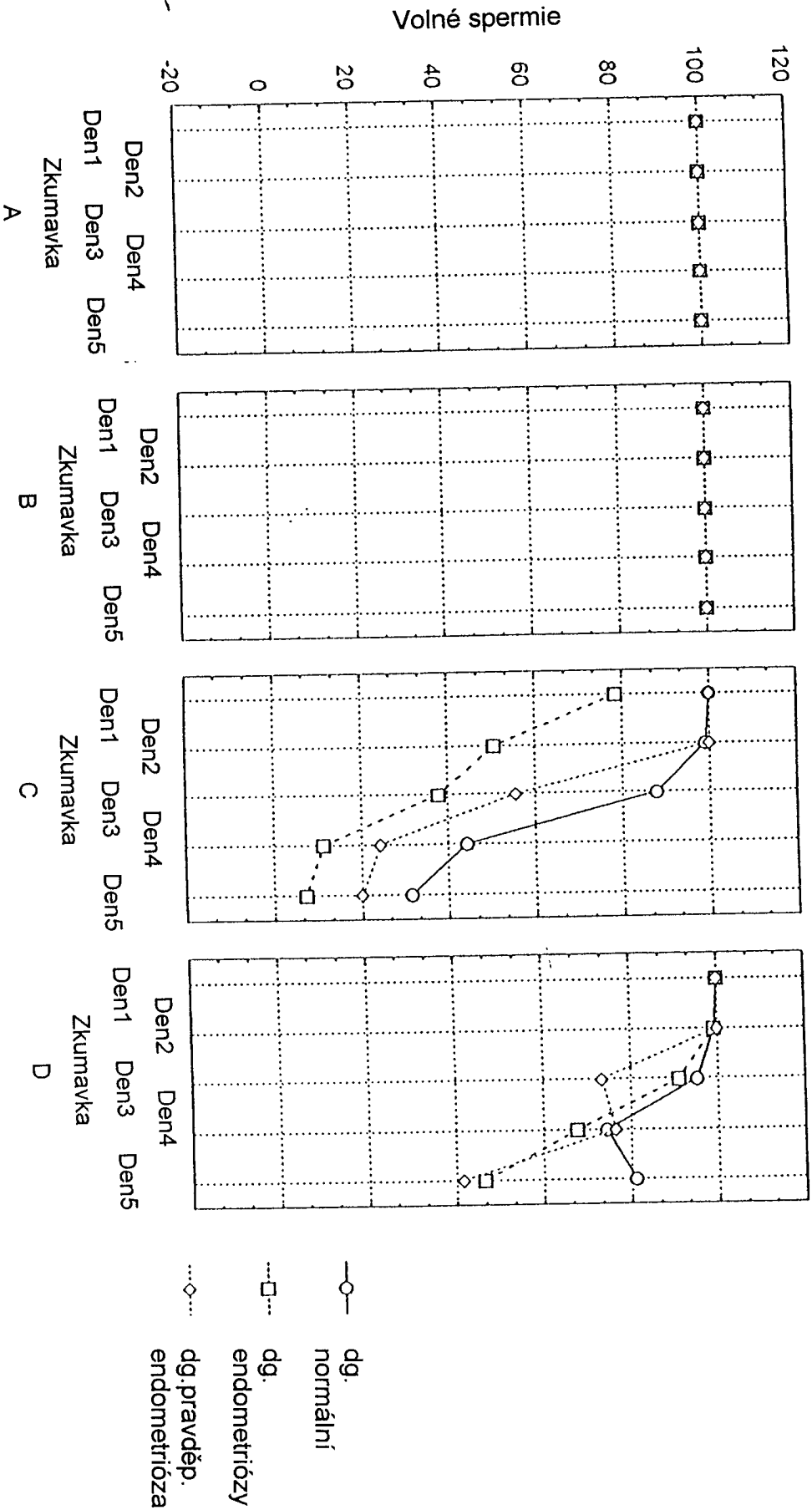
Souhrnně tato studie dokazuje snížené pohlcování spermií za přítomnosti lidokainu. Tento jev se musí dále sledovat při randomizovaných klinických studiích pertubací za pomoci fyziologického roztoku nebo roztoků lidokainu ve fyziologickém roztoku před ovulací. (období zvýšené hladiny LH)

Zatímco současný vynález je popisován ve spojení s výhodnými sloučeninami a látkami, musí se chápat, že se mohou provádět určité náhrady a úpravy, bez odchýlení od rozsahu následujících nároků.

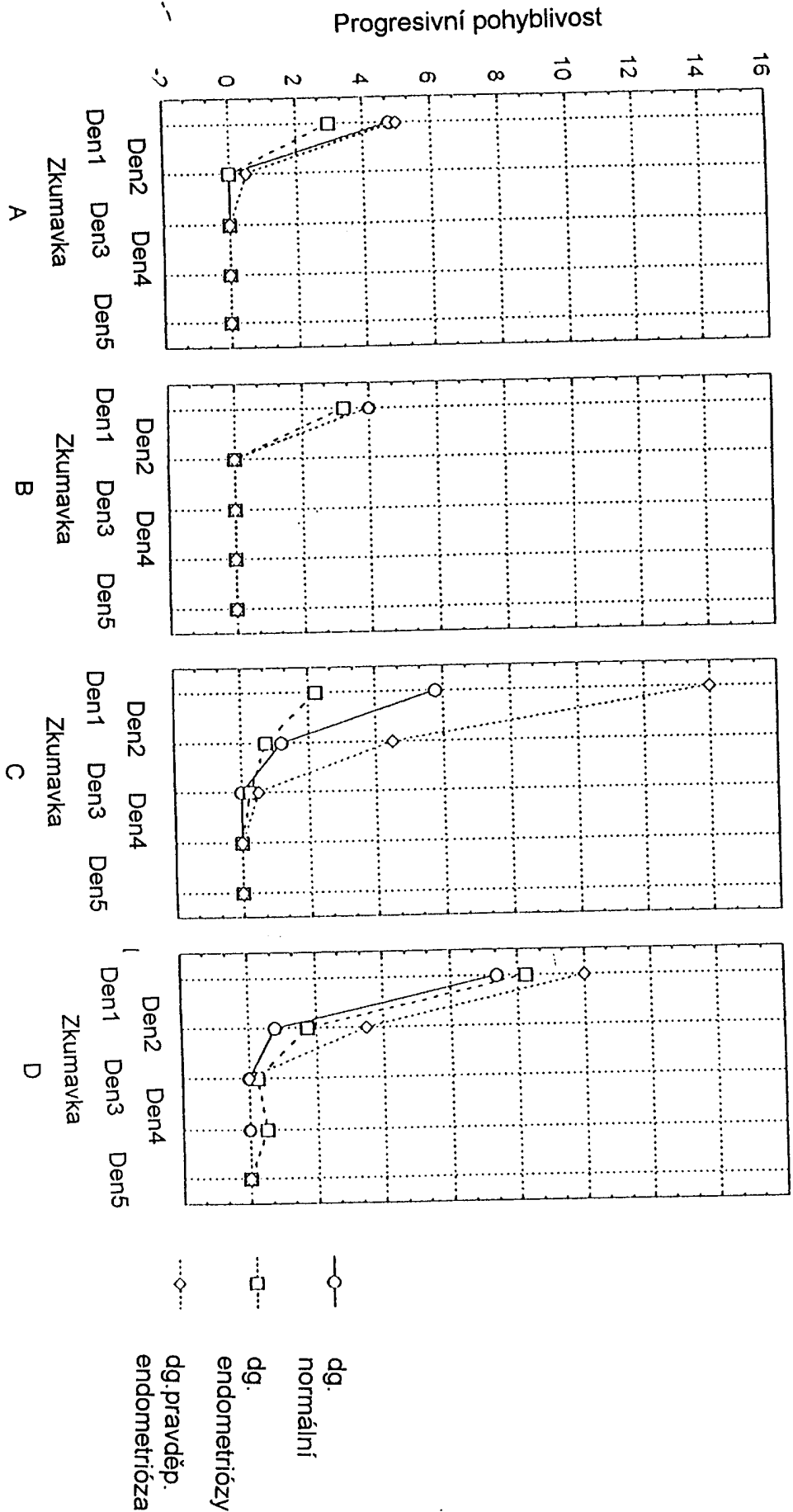
## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití lokálního anestetika k výrobě léku vyznačující se tím, že se používá proti neplodnosti nebo ke zvýšení plodnosti.
2. Použití podle nároku 1 vyznačující se tím, že lokální anestetikum je vybráno ze skupiny, která obsahuje bupivakain, lidokain, mepivakain, prilokain a ropivakain.
3. Farmaceutická látka vyznačující se tím, že obsahuje farmaceuticky účinnou koncentraci lokálního anestetika s farmaceuticky přijatelným vehikulem.
4. Farmaceutická látka podle nároku 3 vyznačující se tím, že farmaceuticky účinná koncentrace je alespoň 5  $\mu\text{g/ml}$ .
5. Farmaceutická látka podle nároku 3 vyznačující se tím, že lokální anestetikum je vybráno ze skupiny, která obsahuje bupivakain, lidokain, mepivakain, prilokain a ropivakain.
6. Farmaceutická látka podle nároku 3 vyznačující se tím, že farmaceuticky přijatelné vehikulum obsahuje fyziologický roztok NaCl nebo Ringerův roztok.
7. Farmaceutická látka podle kteréhokoliv nároku 3 až 6 vyznačující se tím, že obsahuje hyaluronan.
8. Způsob zvýšení plodnosti u žen pomocí farmaceutické látky podle nároku 3 vyznačující se tím, že farmaceutická látka je podávána do dutiny břišní s výhodou přes vejcovody.

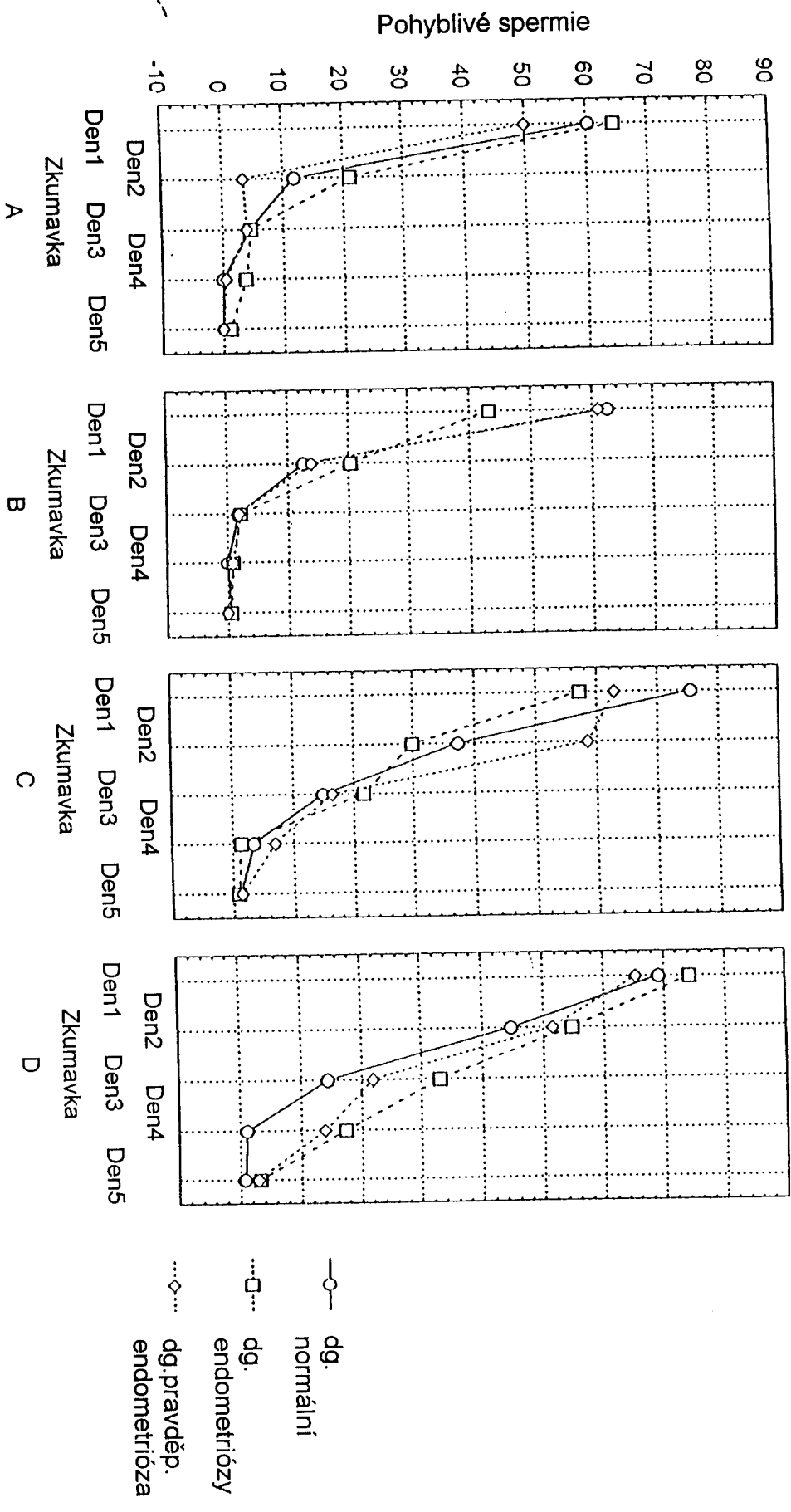
Grafy průměrů  
při trojném křížení  
OBRAZEK 1



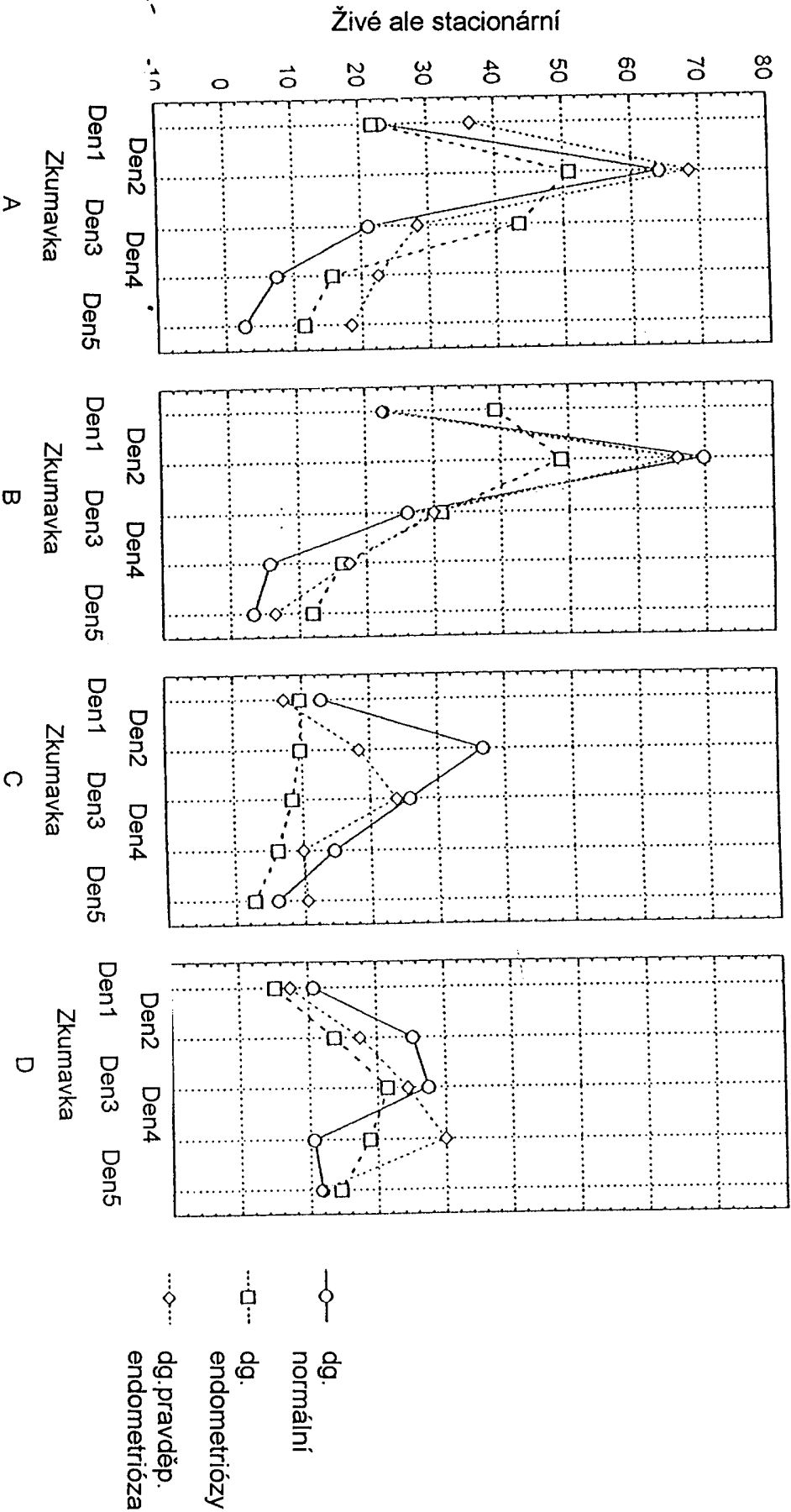
Grafy průměrů  
při trojném křížení  
OBRAZEK 2



Grafy průměrů  
při trojném křížení  
OBRAZEK 3



Grafy průměrů  
při trojném křížení  
OBRAZEK 4



Grafy průměrů  
při trojném křížení  
OBRÁZEK 5

