PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:
284 441

(19)
ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2254-94**
(22) Přihlášeno: **20. 12. 93**
(30) Právo přednosti:
18. 12. 92 CA 92/2085785
(40) Zveřejněno: **15. 03. 95**
(Věstník č. 3/95)
(47) Uděleno: **29. 09. 98**
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **11. 11. 98**
(Věstník č. 11/98)
(86) PCT číslo: **PCT/CA93/00554**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 94/14439**

(13) Druh dokumentu: **B6**
(51) Int. Cl.[6]:
A 61 K 31/44

(73) Majitel patentu:
CANADIAN SPINAL RESEARCH ORGANIZATION, Richmond Hill, CA;

(72) Původce vynálezu:
Hansebout Robert R., Hamilton, CA;
Blight Andrew R., Chapel Hill, NC, US;

(74) Zástupce:
Smola Josef ing., Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300;

(54) Název vynálezu:
Použití 4-aminopyridinu k výrobě léčiva

(57) Anotace:
Je popsáno použití 4-aminopyridinu k výrobě léčiva pro léčení bolesti a spasticity u neurologických stavů. Zejména jde o použití 4-aminopyridinu u pacientů s poraněnou míchou. Bylo zjištěno, že 4-aminopyridin může snížit bolest a spasticitu u pacientů s poraněnou míchou, když se podává v jednotkových dávkách od 18 do 30 mg. Výsledky jsou velmi významné vzhledem k vysoké četnosti těchto problémů a neodstranitelné centrální bolesti u pacientů s poraněnou míchou. 4-aminopyridin je také užitečný pro zvýšení sensorických schopností a motorické kontroly.

CZ 284 441 B6

Použití 4–aminopyridinu k výrobě léčiva

Oblast techniky

Vynález se týká použití 4–aminopyridinu k výrobě léčiva.

Dosavadní stav techniky

Neurologické nedostatečnosti vyplývající z traumatického poškození míchy jsou tradičně připisovány přetnutí axonů cest v bílé hmotě, které normálně zprostředkují interakci mezi oblastmi nervového systému nad a pod místem přímého poškození. Klinické patologické studie poranění míchy potvrzují, že dochází k značné ztrátě bílé hmoty, ačkoliv k nejhoršímu poškození dochází v centrální šedé hmotě (B. A. Kalukas, G. M. Bedbrook, Proc. Aust. Assoc. Neurologists 6: 123–132 (1969), K. Jellinger v P. J. Vicken, G. W. Bruyn, R. Braakman, Eds., Handbook of Clinical Neurology, sv. 25, část I, Amsterdam, 1976, 43–121, B. A. Kalukas, Cent. Nerv. Syst. Trauma, 1:117–129 (1984)). Úplné přetnutí míchy je relativně vzácné. Rozsah přežití axonů se zpravidla nestanoví dokonce ani v tom malém počtu případů, kdy se provádí posmrtné vyšetření. Úplnost léze je však důležitým faktorem, protože porucha vodivosti v kterékoliv nervové cestě může přispět ke ztrátám sensorické a motorické funkce. Experimentální studie na zvířatech (například E. Eilderberg. D. Strahley, R. Ersparmer, C. J. Watkins, Exp. Neurol., 56: 312–322 (1997), E. Eilderberg, J. L. Story, J. G. Walden, B. L. Meyer, Brain 104:647–663 (1981), E. Eilderberg, J. G. Walden, L. N. Nguy–en, Brain, 104: 647–663 (1981), A. R. Blight, Neuroscience, 10: 521–543 (1983), A. R. Blight, V. DeCrescito, Neuroscience, 19:321–341 (1986), J. C. Bresnahan, M. S. Beattie, F. D. Todd III, D. M. Noyes, Exp. Neurol., 95: 369–385 (1987), L. J. Noble, J. R. Wrathall, Exp. Neurol., 103: 34–40 (1989), A. R. Blight, J. Neurol. Sci., 103: 156–171 (1991)) a několik málo klinických pozorování (W. Noordenbos, P. D. Wall, Pain, 2: 185–195 (1976)) ukázaly, že komplexní neurologické funkce mohou být zprostředkovány malým podílem přežitých axonálních spojů.

Elektrofyziologické záznamy z izolované míchy po tupém zhmoždění ukázaly chronickou poruchu vodivosti akčního potenciálu v přežívajících myelinizovaných axonech (A. R. Blight, Neuroscience, 10: 1471–1486 (1983)). Částečně může být tento blok vodivosti překonán na úrovni jednotlivých nervových vláken pomocí sloučeniny 4–aminopyridinu (4–AP) (A. R. Blight, Brain Res. Bull., 22–47–52 (1989)). Intravenosní injekce této sloučeniny u zvířat s experimentálními nebo přirozeně vzniklými poraněními míchy vedly k významným zlepšením elektrofysiologických funkcí (A. R. Blight, J. A. Gruner, J. Neurol. Sci., 82: 145–159 (1987)) a behaviorálních funkcí (A. R. Blight, J. P. Toombs, M. S. Bauer, W. R. Widmer, J. Neurotrauma, 8: 103–119 (1991)). První studie pacientů s poraněními míchy byla organizována Dr. Keith Hayesem a naznačila převážně na elektrofyziologické úrovni možnost mírného léčebného účinku, přičemž nebyly pozorovány vážné vedlejší účinky (K. C. Hayes, A. R. Blight, R. D. Allatt aj., Proc. IBRO World Conf. Neurosci., strana 345 (1991)).

Použití 4–aminopyridinu bylo navrženo pro zlepšení vedení nervových impulsů a tím zeslabení symptomů při Alzheimerově chorobě (viz WO–A–8909600) a jako antagonní látky pro drogy u lidí a zvířat, které působí ne nebo přes receptory dopaminu nebo jiné receptory neurotransmiterů (viz US–A–4508715). Předpokládá se, že tato aktivita 4–aminopyridinu je výsledkem jeho aktivity blokující kanál draslíku.

Řada uvedených citací se týká práce jednoho nebo více autorů této přihlášky. Avšak doposud nebyly identifikovány a rozpoznány žádoucí účinky 4–aminopyridinu při léčení bolesti a spasticity. Tyto účinky byly zcela neočekávané, protože dřívější práce naznačující zlepšení

vedení nervových impulsů a aktivity blokující kanál draslíku by vedly odborníka k očekávání zvýšení bolesti a spasticity. Naopak ty byly ve studii značně sníženy.

Když se prozkoumá stav techniky v celku, je překvapující, že 4–aminopyridin by mohl být užitečný pro léčení chronické bolesti a spasticity spojené s poraněním míchy. Specificky Burchiel aj. (J. Neurosurg., 63: 246–249 (1985)) uvádí, že „činidla, která buď zvyšují vodivost draslíku nebo selektivně inhibují proud sodíku v regenerujících se axonech by mohly být užitečná pro léčení syndromů chronické bolesti." Avšak v protikladu k tomuto tvrzení 4–aminopyridin snižuje vodivost draslíku a tedy jak souhrn této citace konstatuje, že „4–aminopyridin nemá žádný účinek na základní aktivitu jak spontánně aktivních tak klidových (nervových) vláken." V tomto odkazu není žádný náznak, že by 4–aminopyridin měl jakýkoliv analgetický účinek. Musí se poznamenat, že vynálezci neošetřují normální pocit bolesti, ale ošetřují abnormální „centrální" nebo „neurogenní" bolest, která nebyla dosud prozkoumána na zvířecích modelech nebo u lidských studií.

Ještě další odkaz, který studoval účinky 4–aminopyridinu při reakcích na bolest u krys a myší (Mitsov aj., Medline Abstract. č. 89052841, Farmakol. Toksikol., 51: 32–34 (1988)) ukázal, že 4–aminopyridin měl analgetický účinek pouze v dávkách 5 mg/kg a nikoliv při 1 či 3 mg/kg. Protože 5 mg/kg je možná fatální předávkování, které působí významnou záchvatovou aktivitu, není překvapující, že reakce zvířat byla nepříznivě ovlivněna. Takový nedostatek reakce jasně neznamená „analgetickou aktivitu". Výsledky Mitsova aj. by vedly k domněnce, že dávky v tomto vynálezu by byly neúčinné. V popisu se uvádí, že celková zamýšlená dávka pro pacienta je od 18 do 30 mg, což dává průměrné dávkové rozmezí 0,25–0,30 mg/kg na průměrnou hmotnost pacienta 70 až 100 kg. Je jasné, že stav techniky nikde neuvádí specifické snížení chronické bolesti u pacientů s poraněnou míchou. Mimo to se musí poznamenat, že taková chronická bolest není normálně blokována analgetiky, protože, jak se uvádí v popisu a podrobně ve studiích (A. Beric v M. R. Dimitrijevic, P. D. Wall, U. Lindblom (Eds) Recent Achievements in Restorative Neurology 3, Karger, Basel, 1990, 27–36, B. A, Kalukas, E. Smith, U. Gaekward, C. Kaelan, P. F.Jacobsen 1990 v M. R. Dimitrijevic, P. D. Wall, U. Lindblom, (Eds), Recent Achievements in Restorative Neurology 3, Karger, Basel, 1990, 37–41, a X.–J. Xu, X.–J. Hao, H. Aldskogius, A. Seiger, Z. Wiesenfeld–Hallin, Pain, 48: 279–290 (1992)), taková bolest je trvale neovladatelná, což se považuje za výsledek spontánní aktivity poraněných a demyelinovaných nervových vláken.

Podstata vynálezu

V souladu s vynálezem byla navržena klinická studie, zaměřená na vyšetření potenciálního funkčního léčebného účinku 4–aminopyridinu u pacientů s chronickými poraněními míchy: Použilo se schéma studie kontrolované placebem, dvojité slepé a křížové, aby se vyloučil možný vliv očekávání pacientů a aby se minimalizovalo ovlivnění pozorovatele. Ověřovalo se široké rozpětí typů poranění a vycházelo se z předpokladu, že účinnost tohoto přístupu k léčbě poruch vodivosti by se mohla měnit v závislosti na stupni a distribuci poškození míchy.

Výsledky studie prokázaly, že 4–aminopyridin je užitečný při zvýšení motorických a senzorických schopností u pacientů s poraněním míchou. Navíc se překvapivě 4–aminopyridin ukázal jako schopný snížit chronickou bolest a spasticitu u některých pacientů. Tento druhý účinek byl při známých vlastnostech 4–aminopyridinu neočekávaný.

V důsledku toho je podstatou vynálezu použití 4–aminopyridinu k výrobě léčiva pro léčení bolesti a spasticity u neurologických stavů.

Použití je výhodné tehdy, kdy neurologický stav je důsledkem poranění míchy.

Je podstatné použití, kdy se 4–aminopyridin podává k snížení bolesti.

Je přínosem použití, kdy se 4–aminopyridin podává k snížení bolesti u jednotlivce s poraněnou míchou.

Je výhodné použití ke snížení spasticity, zejména ke snížení spasticity při poranění míchy.

Je přínosem použití, kdy se 4–aminopyridin použije v jednotkové dávce od 15 do 30 mg.

Výhodné je použití 4–aminopyridinu v intravenosní nebo orální formě.

Přehled obrázků na výkresech

Obr. 1 ukazuje časový průběh změn hladiny 4–aminopyridinu v plazmě u všech pacientů ve stoupajícím pořadí podle velikosti celkové dávky. U většiny pacientů se vyskytl určitý stupeň oscilace hladin sledované látky, což snad svědčí o enterosystémové recirkulaci. Období infuze 4–aminopyridinu je naznačeno plnou čárou.

Obr. 2 ukazuje rozptylový diagram, který demonstruje korelace mezi celkovou podanou dávkou 4–aminopyridinu (v mg/kg) a maximální zjištěnou plazmatickou hladinou. Pozorovaný vztah (regrese nejmenšími čtverci) je takový, že na každý mg/kg látky infundované během asi 2 hodin byla maximální dosažená plazmatická hladina přibližně 0,27 mg/ml.

Obr. 3 ukazuje průběh plazmatických hladin 4–AP zaznamenaný u dvou pacientů (EB, GCh) po dobu druhého, otevřeného podávání 4–AP. Plazmatické hladiny byly po 48 hodinách u obou pacientů pod mezí detekce (asi 3 ng/ml).

Obr. 4 ukazuje histogramy ilustrující postup změn neurologického skóre citlivosti při bodnutí špendlíkem (jehlou) u dvou pacientů (EB, GCh), kteří se podrobili druhému pokusu. Uvádí se průměrné skóre pro levou a pravou stranou v testovaných dermatómech C5 až S1. Maximální zlepšení senzorického skóre u obou pacientů se dosáhlo 24 hodin po infuzi látky. U pacienta vyšetřovaného po 72 hodinách (GCh) se hodnoty už úplně vrátily do předinfuzního stavu.

Obr. 5 ukazuje histogramy ilustrující postup změn motorického skóre v textovaných svalech na obou stranách těla jednoho subjektu (EB), který se podrobil druhé infuzi 4–AP.

Vysvětlivky k obr. 5:

hip flex.	flexory hýžďové
hip ext.	extenzory hýžďové
quads.	quadriceps
hamstr.	podkolenní šlachy
ank. dorsi	dorsiflexory kotníku
ank. plant.	extenzory kotníku
deltoid	deltoid
eld. flex.	flexory
triceps	triceps
wr. flex.	flexory zápěstí
wr. ext.	extenzory zápěstí
fingers	flexory a extenzory prstů
hr	hodiny
pre	před podáním
* –	údaje nezaznamenány

Podobně jako při senzorickém vyšetření (obr. 4) se zlepšení skóre pozorovalo po 24 hodin po infuzi, ačkoliv maximální zlepšení se v tomto případě objevilo už po 2 hodinách.

Příklady provedení vynálezu

Příprava 4–aminopyridinu (4–AP)

Látka byla získána ve formě purifikovaného prášku od firmy Regis Chemical Company (Morton Grove, Illinois). Do formy injekčního roztoku pomocí vehikula (0.9 % fyziologický roztok) (D. R. A. Uges, T. Huizinga, Pharm. Acta Helv., 56: 158–162 (1981)) v lékárně nemocnice St. Josepha. Lékárna též odpovídala za zkoušky pyrogenicity, za randomizování pořadí v němž se podávala látka a vehikulum jednotlivým pacientům a za zvyšování dávek během studie. 4–AP se pro první dva pacienty připravil v koncentraci 3 mg/ml a koncentrace se zvyšovala na 4 a 5 mg/ml pro následující subjekty (viz tabulku 1). Látka se dále 50–násobně ředila dextrózovým fyziologickým roztokem a podávala se formou kontinuální intravenosní infuze rychlostí 150 ml/h, kontrolovanou peristaltickým infuzním čerpadlem. Rychlost podávání látky se tedy zvyšovala z 9 mg/ml u prvých dvou pacientů na 15 mg/ml u posledních čtyř. Celková zamýšlená dávka byla mezi 18 až 30 mg. Kontrolní vehikulum, které nebylo možno rozlišit od roztoku látky, se podávalo stejným způsobem.

Subjekty

Osm pacientů zahrnutých do studie bylo vybráno tak, aby pokryli celý rozsah lézí míchy, včetně případů kvadriplégie, kvadriparéze, paraplégie a paraparéze. Hlavní kritéria pro vyloučení pacientů při výběru byla: důkaz mentální inkompetence, infekční nemoc, předchozí úraz hlavy nebo poškození mozku, anamnéza epileptických křečí nebo snížený křečový práh, kardiovaskulární, metabolické, ledvinové nebo respirační abnormality, známá alergie na látky obsahující pyridin a těhotenství. Bylo vybráno pět pacientů a tři pacientky ve věku od 18 do 65 let. Všechno chronické případy od 1,5 do 10 let po poškození. Bylo sedm traumatických poranění a jeden případ transversní myelitidy neznámého původu. Podrobnější popis anamnézy pacientů a příslušné dávkování látky jsou uvedeny v tabulce 1.

S výjimkou dvou subjektů (HT, GCh) byli všichni léčeni pro bolest anebo spasticitu. Tito pacienti byli požádáni, aby přerušili jakékoliv pravidelné léčení během experimentálního léčení a vyhodnocování, přičemž se respektovalo přiměřené období na eliminaci léčiv ještě před zahájením studie. Studie byla schválena kanadskou Ústavní komisí pro použití lidských subjektů (Institutional Commitee on the Use of Human Subjects) a kanadským Úřadem ochrany zdraví (Health Protection Board of Canada). Všechny subjekty byly informovány o možném riziku experimentální studie a každý dal po informaci souhlas.

Protokol

Experimentální studie byla koncipovaná jako dvojitě slepá, zkřížená, kontrolovaná s placebem, při které se každému pacientovi podávala látka i vehikulum při různých příležitostech, oddělených dvoutýdenním intervalem. Postup podávání byl randomizován. Randomizační kód měli nezávisle pracovníci lékárny a nebyl sdělen vyšetřovatelům před sestavením tabulek a analýzou údajů.

Postup pokusů v každé sérii byl stejný. Pacient byl přijat do nemocnice předcházející den a časně ráno se zahájilo neurologickým vyšetřením a elektrodiagnostickým vyhodnocením. Pak se mu v průběhu asi 2 hodin podávala látka nebo placebo permanentním intravenosním katétrem, přičemž toto období bylo rozděleno na 20 minutové sekvence, které byly podloženy podáním 1 ml dávek roztoku 4–AP. Během procedury se pacient sledoval v četných intervalech elektro-

encefalogramem. Vzorky krve a moči se získávaly dalším intravenosním katétrem a případně močovým katétrem. Krev se získávala v intervalech až do 5 hodin od zahájení podávání látky a moč se získávala před infuzí a 1 a 2 hodiny po zahájení infuze. Pacienti byli znovu vyhodnoceni úplným neurologickým vyšetřením stejným vyšetřovatelem na konci podávání látky. Pak byli znovu vyšetřeni elektrodiagnostickými testy. Předběžné, zjednodušené neurologické vyšetření se někdy provádělo během podávání látky ve snaze identifikovat jakékoliv časné změny bez vyvolání testovací únavy. Elektrodiagnostické testy se opakovaly 2 hodiny po skončení podávání látky. Pacienti, u nichž se pozorovali zřetelnější účinky léčby, zůstávali v nemocnici přes noc a byli opět vyšetřeni následující den. Vzhledem k dlouhodobějším změnám spojeným s léčbou byl další styk s pacienty zajištěn telefonicky nebo korespondenčně.

Dva z pacientů, kteří udávali dlouhodobější účinky, se vrátili do nemocnice po 4 měsících na druhý, otevřený pokus, který zahrnoval i každodenní neurologické vyšetření po 3 až 4 dny. Od těchto dvou pacientů se rovněž odebíraly denně vzorky plasmy pro stanovení 4–AP.

Elektrodiagnostické testy

Bezprostředně před a po infuzi 4–AP nebo placeba a přibližně 2 hodiny po skončení infuze se pacienti vyhodnocovali řadou standardních elektrodiagnostických testů: měřením vedení vzruchu v n. peroneus, n. posterior tibialis a n. surae, elektromyografie svalů tibialis anterior a gastrocnemius v klidu a při maximální volní kontrakci, a snímáním evokovaných somatosensorických potenciálů. Pacienti se také sledovali elektroencefalogramem v intervalech během infuze, aby se získal důkaz o potenciální křečové aktivitě.

Neurologické vyšetření

Pacienti se vyšetřovali podle modifikovaného formuláře „Standardy neurologické klasifikace pacientů s poraněním míchy“ Americké asociace pro poranění míchy (American Spinal Injury Association – ASIA) (revidována 1990). Úpravy měly hlavně zjednodušit vyšetření, aby se mohlo provádět na pacientech ležících na posteli se zavedeným intravenosním katétrem, elektrodami a močovým katétrem, které omezovaly rozsah pohybů. Vyšetření prováděná později byla vyšetření ambulantní, při nichž byli subjekty částečně oblečeni, takže vyšetření dermatomů bylo někdy neúplné. Z každé části vyšetření se snímal videozáznam pro každou stranu těla zvlášť pro pozdější ověření.

Ocenění motorických schopností podle ASIA se dělo, kdykoli to jen bylo možné, na 0–5 bodové stupnici:

0– chybí (úplná paralýza)
1– stopa (palpovatelná nebo viditelná kontrakce vedoucí k malému nebo žádnému pohybu v kloubu)
2– špatný (aktivní pohyb ve většině nebo celém rozsahu s eliminací gravitace – kde je relevantní)
3– slabá (aktivní pohyb v celém rozsahu proti gravitaci)
4– dobrá (aktivní pohyb proti odporu)
5– normální.

Vyšetřované byly svaly: m.deltoideus, m.biceps, m.triceps, extenzory zápěstí, flexory zápěstí, flexory a extenzory prstů (kombinované), bedrové flexory (m.iliopsoas), bedrové extenzory, m.quadriceps, podkolenní šlachy, dorsiflexory kotníku (m.tibialis anterior), plantarflexory (m.gasrocnemius a m.soleus) a extenzory palce (extensor hallucis longus). Celkové dosažitelné skóre úplného motorického vyšetření bylo 130.

Senzorické schopnosti se hodnotily na podobné 0–4 bodové stupnici:

0– chybí (bez schopnosti zjistit podnět)
1– stopa (neúplná nebo proměnlivá schopnosti zjistit podnět s malým nebo žádným rozlišením kvality)
2– lehký (schopnost zjistit podnět, ale vzhledem, k nedotčeným oblastem mnohem slabší a změněné kvality)
3– mírná (schopnost zjistit podnět s prakticky úplnou kvalitou, ale sníženou intensitou)
5– normální v kvalitě a intensitě.

Podněty, kterými se testovalo senzorické vnímání, byly lehký dotyk, bodnutí špendlíkem, vibrace, poloha kloubu a teplota. Dotyk a bodnutí špendlíkem se testovaly v následujících dermatomech: C5, 6 7, 8, T1, T7–9, L1, 2, 3, 4, 5 a S1, což dávalo celkové dosažitelné skóre 96 u každého podnětu.

Vnímání vibrací se obyčejně testovalo bilaterálně na rameni, lokti, kolenu a kotníku. Vnímání teploty se testovalo foukáním chladného vzduchu z větší vzdálenosti, nebo dýcháním teplého vzduchu z malé vzdálenosti na dorzální povrch rukou a nohou, přičemž subjekty měli zavřené oči. Citlivost na polohu kloubu se zkoušela u subjektů se zavřenýma očima na vnucenou flexi anebo extenzi palce na ruce a noze. Celkové dosažitelné skóre při úplném senzorickém vyšetření bylo 256 bodů.

Segmentální reflexy (záškub m.biceps, m.triceps a kotníku) se hodnotilo konvenčním způsobem pomocí reflexního kladívka a bodovalo na 0–4 bodové stupnici:

0– bez zřejmé odpovědi
1– slabá odpověď
2– živá odpověď s normální amplitudou
3– odpověď s abnormálně velkou amplitudou
4– odpověď s velkou amplitudou s klonickou křečovou složkou.

Celkové dosažitelné skóre u pacienta s hyperreflexí a klonickou křečovou složkou ve všech testovaných svalech bylo 32.

Stanovení 4–AP v plasmě a moči

Vzorky krve se získávaly stálým intravenosním katétrem v paži protilehlé paži, do které se podávala látka. Do 5 hodin po zahájení podávání látky se v časovým intervalech odebralo deset nebo jedenáct takových vzorků (viz obr. 1). Vzorky moči se odebíraly 1 a 2 hodině po zahájení infuze látky z urinárního sáčku pacienta, který byl připojen na močový katétr.

Vzorky plasmy a moči se skladovaly při –80 °C do té doby, dokud se nestanovily hladiny 4–AP pomocí kolonové kapalné chromatografie technikou popsanou podrobně jinde (Kostka aj., 1992). V krátkosti – před extrakcí kapalina–kapalina se jak vzorek plasmy, tak moči, podrobily benzoylaci Schottenovou– Baumannovou reakcí, aby se 4–AP převedl na N–benzoyl–4–AP (Bz4–AP). Jako vnitřní standard byl vybrán propionyl prokainamid (PPA). Tyto extrakty se chromatografovaly na ultrasférickém oktylovém sloupci o rozměrech 15 cm x 4,6 mm s použitím mobilní fáze obsahující 12 % acetonitrilu a 2 g/l tetramethylamonium perchlorátu upraveného na pH 3 kyselinou perchlorovou. Výtěžek extrakce Bz4–AP byl 80 až 85%.

Výsledky

Studie se uskutečnila podle předem daného protokolu s několika výjimkami. Jeden pacient (AW) dostal pouze 25 mg 4–AP místo plánovaných 30 mg celkové dávky. U tohoto pacienta byla infuze zastavena pro kombinaci nepříjemných pocitů v paži v místě aplikace a pro významnou agitaci a úzkost, kterou pacient pociťoval. V tomto případě nedošlo k dalším komplikacím a

pacient se dostal do příjemnějšího stavu dříve než za hodinu po přerušení infuze. Jiný pacient (LJ), který měl dostat 18 mg 4–AP v 6 dávkách po 3 mg, se nedostavil na prvý den pokusu a nebyl studován, pokud se dávka nezvýšila na 5 mg. Protože lékárna připravila menší množství injekčního materiálu, tento subjekt mohl dostat pouze 5 dávek po 5 mg. Jiný pacient (RB) nedokázal abstinovat od svého normálního léku proti bolesti (Percocet–oxycodon HCl, acetaminofenon) a dovolilo se mu pokračovat po dni klidu.

Při prvé sérii dostávali tři pacienti placebo a pět pacientů dostávalo 4–AP (tabulka 1). Lékárna neuvolnila informaci vyšetřovatelům o přítomnosti placeba nebo látky v infuzi, pokud nevyhodnotili všechny údaje, včetně chemických analýz vzorků krve a moči, což byla poslední dostupná informace.

Hladiny 4–AP v plasmě

Časový průběh změn hladiny 4–aminopyridinu u všech subjektů je ukázán na obr. 1. Většina subjektů vykazovala oscilaci měřených hladin. Špičkové hladiny v oběhu se objevily krátce před koncem nebo po konci období infuze. Zjištěné špičkové hladiny významně korelovaly s dávkou podanou pacientům v mg/kg/h (obr. 2). Všechny subjekty vykázaly významné hladiny 4–AP v plasmě po 2 až 3 hodiny po skončení infuze látky, kdy se odebral poslední vzorek krve. Z tohoto údaje se nedal extrapolovat pravděpodobný průběh eliminace látky. Od dvou pacientů, kteří se vrátili do nemocnice na druhý pokus otevřeného podávání látky, se vzorky krve odebíraly denně po 3 dny. Obr. 3 ukazuje hladiny 4–AP v plasmě zaznamenané v den infuze a následující den. Koncentrace 4–AP v plasmě byly pod mezí stanovení (asi 3 ng/ml) ve vzorcích odebraných 2 dny po podání. Rychlost poklesu koncentrace 4–AP v plasmě u těchto dvou pacientů naznačuje, že by zbylo po 2 dnech po infuzi méně než 1 % špičkových hladin v oběhu.

Negativní vedlejší účinky

Nejčastěji pozorovaným vedlejším účinkem látky byl pocit nepohodlí v paži, do které se látka zaváděla. Intenzita potíží se u různých pacientů měnila od obvyklého nepohodlí, které se normálně pociťuje u intravenosních katétrů (při srovnáním s katétrem zavedeným do druhé paže pro vzorkování krve) až po bolest a pálivou bolest u jednoho pacienta dostatečně silnou na to, aby požádal o přerušení infuze látky. Tři subjekty (HT, GCu, GCh) nehlásily žádné neobvyklé pocity v paži nebo žádné jiné negativní vedlejší účinky. Dva pacienti hlásili silné pálení s svědění v paži tito oba pacienti též pociťovali zvýšenou úzkost, doprovázenou krátkými přechodnými údobími pocení a zimnice ke konci období infuze. Tito oba pacienti byli označeni před pokusem za náladové osobnosti. Jiný subjekt (AW), jediný co nemohl dokončit infuzní fázi experimentu, začal rovněž být netrpělivý a odmítl dokončit elektrodiagnostickou fázi placebového pokusu. Dva subjekty (LJ, EB) udávaly pocit čisté hlavy ke konci období infuze. Dva pacienti (AW, EB) hlásili opožděný pálivý pocit v oblasti kůže pod hranicí poranění, trvající 1 až 2 hodiny během noci po infuzi. Žádné jiné zřejmé vedlejší účinky látky se během studie nepozorovaly. Nebyly zjištěny žádné nepříznivé indikace na záznamech elektroencefalogramu, ani při běžném sledování životních projevů.

Elektrofyziologické účinky

Šest subjektů nevykázalo žádné zjistitelné somatosensorické evokované potenciály při stimulaci nervu posterior tibia, jak před, tak po podávání látky. Zbylé dva subjekty (AW, GCh) měli opakovaně somatosensorické evokované potenciály s malou amplitudou. Ty se významně nezměnily po infuzi látky nebo placeba. Nebyly zjištěny žádné konsistentní účinky na vodivost periferálního nervu. Údaje elektromyografie byly konsistentní s pozorovanými změnami síle svalové kontrakce. Při omezeném počtu zaznamenaných vzorků nebyly však dostatečně spolehlivé k tomu, aby se vyloučila variabilita záznamů.

Neurologické účinky

Žádný subjekt nehlásil jakékoliv příznivé změny po injekci solného vehikula. Tři subjekty (RB, SC, HT) také nepozorovaly žádné zlepšení svého stavu po infuzi 4–AP. To byli tři nejhůře postižení pacienti a zahrnovali dva subjekty diagnostikované jako Frankelova třída A – žádná motorická nebo sensorická funkce pod místem léze, a jeden ze dvou pacientů diagnostikovaných jako Frankelova třída B. Zbylých 5 subjektů v rozmezí „neúplných" poranění vykazovalo pozitivní motorické nebo sensorické účinky, z nichž některé se zjistily při plánovaném neurologickém vyšetření v den infuze. Opožděné účinky, které oznámili sami pacienti, si vynutily podrobnější vyšetření časového průběhu účinků.

Změny neurologického vyšetření po 2 hodinách

Za dvě hodiny po zahájení infuze vehikula a látky se pozorovali u pacientů určité změny neurologického skóre. Rozdíl celkového počtu bodů při předinfuzních a poinfuzních vyšetřeních je ukázán v tabulce 2: Ačkoliv vyšetřovatelé přidělovali i půlbodové skóre v případech, kdy měli dojem, že subjekty odpovídají stavu mezi bodovými kategoriemi, všechny půlbodové rozdíly mezi předinfuzními a poinfuzními skóre se při této analýze ignorovaly. Také jsou z této tabulace vynechány skóre vnímání vibrací, které jsou ukázány odděleně v tabulce 3. Nejvýraznější změny skóre byly jasně ty, ke kterým došlo po podání 4–AP. Některé z nich budou rozebrány níže. Téměř ve všech případech různé typy vyšetření ukazovaly stejné nebo vyšší skóre po podání 4–AP, zatímco skóre při pokusu s placebem zůstávaly stejné nebo klesaly (tabulka 2). Výjimkou z tohoto trendu bylo vnímání vibrací, kde skóre tří subjektů po podání 4–AP podstatně pokleslo (tabulka 3).

Celkové změny motorického a sensorického skóre, ukázané v tabulce 2, se porovnaly mezi skupinou placeba a 4–AP pomocí Wilcoxonova párového testu. Změny sensorického skóre byly významně větší po 4–AP ($p=0,03$), změny motorického skóre nebyly v důsledku malého počtu případů významné ($p=0,08$).

Projevila se znatelná tendence ke zvýšení amplitudy hlubokých šlachových reflexů bezprostředně po infuzi 4–AP ve srovnání s relativně malou variací po podání placeba (tabulka 4). Ke zvýšení reflexního skóre došlo převážně v pažích, pravděpodobně protože skóre dolních končetin byly už na maximální hodnotě 4 již před podáním látky. Dva pacienti (EB, GCh) vyšetřování v dlouhých intervalech ukazovali lehké snížení hlubokých šlachových reflexů 24 a 48 hodin po infuzi, což bylo konsistentní s jejich snížením spasticity. Dva další pacienti vyšetření 24 hodin po podání látky (AW, LJ) také vykazovali v tomto časovém intervalu snížení reflexní odpovědi, přesto, že účinky na motorické a sensorické funkce byly stále přítomny.

Pozdější změny neurologického vyšetření

Neurologické vyšetření 24 hodin po podání látky se v původním protokolu nevyžadovalo a pět pacientů opustilo nemocnici v den podávání látky. Tři subjekty vyšetřené den po obdržení 4–AP (LJ, AW, GCh) vykazovaly trvalé zlepšení neurologické funkce, u jednoho subjektu (LJ) z nich také s výrazným zlepšením vnímání bodnutí špendlíkem a vnímáním polohy kloubu pod místem léze. Toto zlepšení nebylo zjistitelné ve 2. hodině. Tyto nálezy spolu se zprávami jiných pacientů o trvalých nebo opožděných změnách funkce vedly k druhému hodnocení účinků 4–AP u dvou subjektů s každodenním vyšetřením, pokud neurologické změny v převážné míře neodezněly (viz níže).

Opožděné změny hlášené pacienty

Studie se z počátku navrhovala k vyzkoušení účinků, které by se revertovaly den po infuzi, a to podle publikované farmakokinetiky 4–AP a zpráv o jiných klinických zkušenostech s touto

látkou. Avšak všech pět pacientů s méně úplnými poraněními udávalo opožděné nebo trvalé účinky ve dnech následujících po aplikaci 4–AP. Tyto zprávy byly dostatečně komplexní, aby se posuzovaly individuálně.

Subjekt LJ

Tento pacient pozoroval zvýšenou citlivost, bolest v levé paži a mírný pocit nutkání na zvracení a pocit čisté hlavy bezprostředně po infuzi. Příští den cítil větší pohyby jednoho palce a ukazováku. Také pociťoval větší citlivost pod místem léze, což se potvrdilo neurologickým vyšetřením. Obvyklá pálivá bolest, kterou pociťoval na sedací části, zmizela, ačkoliv jej ještě pálily dolní končetiny, což se zvýšilo ve srovnání se stavem před studií. Následující lékařské pozorování se zkomplikovalo výskytem infekce močového traktu.

Subjekt EB

Tato pacientka neoznámila žádný účinek při prvé infuzi (placebo). Po druhé infuzi se rozhodla jít domů bezprostředně po skončení pokusu. Cítila, že spazmy svalstva dolních končetin byly v den pokusu tak silné, že by se její motorická výkonnost nesnadno hodnotila. Den po podání látky došlo k „pozoruhodnému návratu citlivosti pod místem léze až k téměř normálním pocitům na obou stranách". Došlo i ke znatelnému snížení spasticity po tři dny následující infuzi. Pacientka se vrátila ke své běžné léčbě Baclofenem až čtvrtý den po infuzi. Toto snížení spasticity bylo doprovázeno zvýšenou motorickou silou v levé paži a noze. Prsty levé ruky, normálně schopné jen několika chvějivých pohybů se mohly pohybovat sem a tam 20 až 30 krát ve srovnání s obvyklou únavou. Podobné zlepšení se pozorovalo u pohybů pravého kotníku. Možné vedlejší účinky zahrnovaly „pocit tepla pod kůží od šíje do zadku" po dva dny a příhodu zácpy. Tato pacientka se vrátila na podrobnější vyšetření v druhém otevřeném pokusu.

Subjekt GCh

Tento pacient cítil znatelné zlepšení citlivosti pod místem léze během infuze 4–AP: Udával, že netrpí žádným negativními vedlejšími účinky a že své nohy cítil „normálněji". Jeho nohy se mu obyčejně zdály studené a byla v nich a chodidlech trvalá bolest. Alespoň 2 dny následující infuzi bolest v nohách zmizela, ačkoliv zůstala částečně v chodidlech, a své nohy cítil teplé, jak „vnitřně", tak na dotyk. Třetí den po infuzi se vrátil do obvyklého stavu. Zvýšení motorická síla u tohoto pacienta se projevila hlavně větší vytrvalostí. Obvykle měl potíže s opakovanými pohyby prstů u nohou, avšak v den infuze 4–AP mohl s nimi pohybovat sem a tam mnohokrát bez obvyklé únavy. Zvýšená motorická síla byla také doprovázena sníženou spasticitou.

Pacient se vrátil na druhý otevřený pokus s 4–AP a pociťoval v podstatě stejné účinky se zvýšenou citlivostí a motorickou vytrvalostí pod místem léze, sníženou chronickou bolestí a poznatelným snížením spasticity. Svalové křeče před druhou infuzí byly dosti silné. Po infuzi, a to déle než 24 hodin, bylo snížení spasticity tak poznatelné, že pacient měl neobvyklé potíže s pohyby kolečkového křesla, protože jeho nohy mu nesloužily obvyklým způsobem.

Subjekt AW

Tento pacient vykázal zvýšenou sílu dolních končetin po infuzi pouhých 8 mg 4–AP. Také pociťoval znatelné zlepšení dýchání, protože mohl využívat rozpínání hrudníku místo diafragmového dýchání. Po 21 mg infuze se stala jeho paže velmi bolestivou. Stal se úzkostlivým, pak byl podrážděný a začal mít střídavé krátké přechodné údobí pocení a zimnice. Infuze látky byla zastavena a subjekt se vrátil do lepšího stavu asi během 10 minut. Byl si vědom zvýšené citlivosti a síly ve svých nohách, ačkoliv se zdála menší než při prvé části infuze. Ráno po infuzi vykazoval zvýšenou citlivost a sílu v nohách. Byl schopný vstát rychleji a snadněji ze svého kolečkového křesla a vyjadřoval se velmi kladně o celkových účincích látky. Při svém návratu na

druhé podání o 2 týdny později udával, že senzorický a motorický účinek, včetně zlepšeného dýchání, trval asi 2 dny, pak postupně odezněl.

Subjekt GCu

Tento subjekt byl nejméně poškozen. Nepozoroval žádné změny svého stavu v den infuze, ale později oznámil, že jeho paže a levá noha byly silnější „snad o 25 %" a mohl zvládnout efektivněji svou zemědělskou práci. Také pociťoval významné snížení obvyklé chvějivé paresthesie ve svých rukou.

Druhé otevřené podávání

Dva pacienti, kteří se vrátili po 4 měsících na prodloužené vyhodnocení, vykazovali podobné účinky a vedlejší účinky jako při předešlém slepém podávání 4–AP. Při této příležitosti se mohl časový průběh změn účinků sledovat bezprostředněji. Nejzřetelnější a společnou změnou neurologického stavu obou pacientů bylo rozdělení citlivosti na bodnutí špendlíkem pod místem léze. Pozoruhodný růst citlivosti na bodnutí špendlíkem pod místem léze je ukázán na obrázku 4. Zlepšení citlivosti se zdálo vrcholit po 24 hodinách a bylo ještě zjistitelné po 48 hodinách po infuzi látky v obou případech. Zdálo se, že účinek zcela odezněl po 72 hodinách u jednoho subjektu, který byl v té době vyšetřován. Existovaly určité náznaky proximodistálního prodlení počátku účinku, včetně počáteční deprese odpovědi v nejdistálnějších dermatomech vyšetřovaných 2 hodiny po infuzi.

Vyšetření motorických schopností bylo zkomplikováno změnami spasticity před podáním 4–AP, jakož i někdy konfliktními účinky látky na motorickou kontrolu a motorickou sílu. Snížení spasticity svalů v nohách vedlo někdy k snížení motorické síly, zejména při pohybech stehen a kolena, kde pacient je často schopen využít základní tuhosti svalu jako podpory pohybu. Dostupné údaje ukazují na opožděný časový průběh změn motorické soustavy podobně jak byl pozorován u hodnocení citlivosti. Avšak určité náznaky svědčily, že vrcholný účinek na motorické funkce se dosáhl při prvém vyšetření po 2 hodinách (obrázek 5).

Diskuse

Tato studie ukázala, že mírné dávky 4–AP podané pacientům s chronickým poškozením míchy jsou spojeny s řadou blahodárných účinků u významné části (5 a 6) u „neúplných" poškození. V této skupině pacientů se pozorovaly zřetelnější neurologické účinky než v předcházejících studiích.

Objektivitu těchto neurologických účinků podporuje řada faktorů. Za prvé, studie byla dvojitě slepá a ačkoliv některé subjekty a vyšetřovatelé mohli efektivně poznat při testu látky vedlejší příznaky, neexistoval vztah mezi objevením se vedlejších příznaků a zřejmým prospěchem. Nejčastější a nejsilnější účinky se dosáhly u pacientů bez vedlejších příznaků a žádné zlepšení se nepozorovalo u dvou subjektů s vedlejšími příznaky. Účinky oznámené pacienty nebyly vždy ty, na jejichž možnost byli upozorněni. Některé z nich byly překvapující i pro vyšetřovatele, zejména snížení bolesti a spasticity, avšak ty udávali nezávisle pacienti, kteří spolu vzájemně nekomunikovali.

Statistické vyhodnocení těchto změn je obtížné pro malý počet případů, jejich výběr z velkého rozsahu intenzity poškození a obvyklým hodnocením neurologické analýzy. Tato omezení by se měla srovnat s reversibilitou účinku látky, jeho opakovatelností u dvou pacientů vyšetřených dvakrát a charakterem účinků sdílených subjekty. Blahodárné účinky působené látkou se zdály být závislé na závažnosti poškození s největšími účinky u středně silné kvadriplegie (Frankelova třída C). Dva pacienty s neurologicky „úplnými" poškozeními míchy neukázali žádné účinky.

Malé změny neurologického skóre, ke kterému došlo po podání placeba u některých subjektů (tabulky 2 a 3) jsou asi výsledkem tří hlavních faktorů:

1) únavou vzniklou opakovaným testováním a protahovanou nehybností vyžadovanou samotnou studií, 2) omezeními v opakovatelnosti přidělení skóre, 3) skutečnou proměnlivostí neurologické funkce subjektů, včetně existence „skvrnitých" receptivních polí vyšetřovaných dermatomů. Nejdůležitějším byl asi prvý z těchto faktorů a pravděpodobně zavinil převahu negativních změn po podání placeba. Menší počet negativních změn po podání 4–AP by se měl vzít v úvahu k většímu počtu positivních zlepšení skóre.

Pozorování, že podávání 4–AP může mít nějaký negativní účinek na pociťování vibrací (tabulka 3), je znepokojující. Ačkoliv vzorek byl malý, možnost, že toto snížené vnímání vibrací byl skutečně účinek 4–AP, byla podpořena pozorováním, že dva subjekty (EB, GCh) rovněž ukazovali snížené vnímání vibrací při opakované zjevné injekci látky. Zdá se možné, že blokáda draslíkových kanálů může selektivně ovlivňovat transmisi signálů spojených s vysokou frekvenční a nízkou amplitudovou stimulací.

Neurologické účinky při poškození míchy

Ačkoliv některé neurologické změny spojené s podáváním 4–AP v této skupině pacientů s poškozeními míchy byly podobné těm, které se dříve pozorovaly u pacientů s multiple sklerosis (D. Stefoski, F. A. Davis, M. Faut, C. L. Schauf, Ann. Neurol., 21: 71–77 (1987), F. A. Davis, D. Stefoski, J. Rush Ann. Neurol., 27: 186–192 (1990), D. Stefoski, F. A. Davis, W. E. Fitzsimmons, S. S. Luskin, J. Rush, G. W. Parkurst, Neurology, 41: 1344–1348 (1991)), včetně selektivního zvýšení motorické síly a zotavení z nedostatku citlivosti s relativně rychlým nástupem, trvání změn bylo překvapivě dlouhé, včetně některých subjektů se zlepšenou funkcí trvající přes 48 hodin. K takovým změnám došlo v 5 z 6 případů neúplných poškození míchy. Prospěch byl dostatečně zřejmý samotným pacientům, takže čtyři pacienti projevili silné přání dostávat látku pravidelně.

Některé nejnápadnější účinky, pozorované jak v úplných, tak neúplných případech, zahrnují dlouho trvající snížení spasticity, chronické bolesti a dysesthesiasy týkající se teploty kůže dolních končetin. Tyto výsledky podporuje řada faktorů: a) subjekty nebyly vedeny k tomu, aby očekávaly dlouho trvající účinky, vysloveně se jim řeklo, že potenciální prospěch bude trvat nejdéle několik hodin, b) pacienti udávali nezávisle podobné kombinace změn, které ani oni ani vyšetřovatelé neočekávali (a ve skutečnosti bylo proti očekávání, že 4–AP by mohla zhoršit spasticitu a paresthesiasu), c) tyto změny se udávaly pouze po podávání látky a nikoliv po podávání placeba, d) tyto změny vedly k velmi sníženému užívání analgetik v jednom případě a léků proti spasticitě alespoň ve dvou případech, e) účinky se reprodukovaly při druhém podávání látky po 4 měsících u dvou subjektů.

Pro dlouho trvající účinky se zdály být dvě možné vysvětlení: buď eliminace látky byla u těchto pacientů s poškozením míchy opožděná proti pozorované u normálních dobrovolníků a u pacientů s multiple sklerosis (D. R. A. Uges, Y. J. Sohn, B. Greijdanus, A. H. J. Scaf, S. Agoston, Clin. Pharmacol. Ther., 31: 587–593 (1982), J. Evenhuis, S. Agoston, P. J. Salt, A. R. Delange, W. Wouthuyse, W. Erdman, Br. J. Anaesth., 53: 567–570 (1981), D. Stefoski, F. A. Davis, W. E. Fitzsimmons, S. S. Luskin, J. Rush, G. W. Parkurst, Neurology, 41: 1344–1348 (1991)) nebo látka vyvolává sekundární změny nervové soustavy, které vedou k dlouho trvajícímu snížení spasticity a abnormálnímu pocitu bolesti. Prvá možnost byla posílena předešlými pozorováními o zmenšeném vylučování léků u pacientů s poškozeními míchy (J. L. Segal, S. H. Brunneman, I, M, Eltorai, M. Vulpe, J. Clin. Pharmacol., 31: 651–656 (1991)) a byla ověřována vyšetřováním hladin 4–AP v plasmě během 3–4 dnů od doby injekce u dvou subjektů ukazujících dlouho trvající účinky léku. Ačkoliv hladiny 4–AP v plasmě byly zjistitelné den po infuzi, průběh eliminace jasně nekoreloval s dlouho trvajícími neurologickými účinky,

které se pozorovaly při vyšetření a které pacienti udávali. To naznačuje, že 4–AP vskutku vyvolává změny nervové soustavy, které se samy udržují po dobu 1–2 dnů.

Bolest a spasticity

Mechanismus účinků na chronickou bolest a spasticitu je obtížné postihnout, ačkoliv důležitost je kritická vzhledem k vysokému výskytu těchto problémů a neléčitelnému charakteru centrální bolesti v rámci poranění míchy (A. Beric, M. R. Dimitrijevic, U. Lindblom, Pain, 34: 109–116 (1988), R. R. Taskerv J. J. Bonica (Ed), The Management of Pain, svazek 1, Lea and Febiger, Philadelphia, 1990, 264–283). Anatomické substráty a fyziologický mechanismus chronické bolesti při poranění míchy nejsou dobře objasněny (A. Beric v M. R. Dimitrijevic, P. D. Wall, U. Lindblom (Eds) Recent Achievements in Restorative Neuroloy 3, Karger, Basel, 1990, 27–36, B. A. Kalukas, E. Smith, U. Gaekward, C. Kaelan, P. F. Jacobsen 1990 v M. R. Dimitrijevic, P. D. Wall, U. Lindblom, (Eds), Recent Achievements in Restorative Neurology 3, Karger, Basel, 1990, 37–41, a X.–J. Xu, X.–J. Hao, H. Aldskogius, A. Seiger, Z. Wiesenfeld–Hallin, Pain, 48: 279–290 (1992)). Jedním z přispívajících buněčných mechanismů může být snaha poškozených a demyelinovaných nervů se stát spontánně aktivní (J. Ochoa v W. I. Culp, J. Ochoa (Eds), Abnormal Nerves and Muscles as Impulse Generators, Oxford University Press, New York, 1982, 568–587, K. J. Smith, W. I. McDonald, J. Neurol. Sci., 55: 39–47 (1982)). Blokáda draslíkových kanálů 4–AP vede ke vzniku nebo posílení spontánní aktivity a může vyvolat „vzryvy" (opakovaný akční potenciál) odpovědi na elektrickou stimulaci (S. G. Waxman, J. D. Kocsis, D. L. Eng, Muscl. Nerve 8: 85–92 (1985), E. F. Targ, J. D. Kocsis, Brain Res., 363:1–9 (1986), J. D. Kocsis, C. M. Bowe, S. G. Waxman, Neurology, 36: 117–120 (1986), A: R. Blight, Brain Res. Bull., 22:47–52 (1989)). Očekávalo se tedy, že 4–AP by mohla zvýšit intenzitu a incidenci chronické bolesti a dysesthesiasy.

Protože je známo, že 4–AP při relativně vysokých koncentracích zvýrazňuje synaptickou transmisi v míše (M. Lemeignan, Neuropharm. 11: 551–558 (1972), E. Jankowska, A. Lundberg, P. Rudomin, E. Syková, Brain Res., 136: 387–392 (1977), E. Jankowska, A. Lundberg, P. Rudomin, E: Syková, Brain Res., 240: 117–129 (1982)) očekávalo se podobně, že 4–AP by mohla zvýšit spasticitu spolu s celkovou dráždivostí nervové soustavy. Ve skutečnosti však aplikace látky byla v některých případech spojena s úlevou od chronické bolesti a spasticity, takže je možné, že jiné specifičtější účinky na blokádu draslíkových kanálů dominují nad generalizovaným zvýšením dráždivosti. Také se vyjevilo ze změn amplitudy reflexů hlubokých šlachových reflexů že generalizované zvýšení synaptické transmise převládalo v den aplikace látky a odeznělo rychleji než specifické změny motorických a citlivostních funkcí.

Tři subjekty, které trpěly chronickou bolestivou dysesthesiasou pod hranicí poranění (GCh, GCu, LJ) udávaly značnou úlevu po infuzi 4–AP, převážně v končetinách. Jeden subjekt, který trpěl dysesthesiasou ve formě trvalého svědění v jednom rameni, neudával žádnou změnu tohoto stavu po podání látky.

Souhrn

Shora uvedené výsledky ukazují, že 4–aminopyridin může zvýšit motorickou a senzorickou kontrolu a snížit chronickou bolest a spasticitu u pacientů s poraněním míchou. Poslední dva účinky nebyly dříve popsány. Ačkoliv studie se omezila na pacienty s poraněnou míchou, 4–aminopyridin může také být užitečný při léčení jiných stavů, které ovlivňují nervovou soustavu, zejména k snížení bolesti a spasticity při těchto stavech.

Ačkoliv 4–aminopyridin se v této studii podával intravenosně, očekává se, že orální podávání by rovněž mohlo být užitečné a mohlo by zamezit vedlejším účinkům pozorovaným v této studii, kterými byla bolest v paži v okolí místa infuze.

Tabulka 1

Charakteristika subjektů a podané dávky 4–aminopyridinu

Subjekt			Poranění				dávka 4–AP		
A	B	C	D	F	G	H	I	J	K
RB	m	42	T7/8	A	6,5	a	4	24	0,36
SC	ž	39	T7	A	10	b	5	30	0,63
HT*	ž	29	C5	B	5,5	c	3	18	0,37
LJ	m	32	C5	B	8,5	c	5	25	0,34
EB*	ž	18	C5	C	3,5	c	4	24	0,33
GCh*	m	44	C5	C	5	d	5	33,5	0,53
AW	m	46	T6	D	1,5	e	5	25	0,26
GCu	m	65	C4	D	9,5	f	3	18	0,22

Vysvětlivky:
A– iniciály
B– pohlaví
C– věk
D– hranice poranění
F– Frankelova klasifikace
G– roky od poranění
H– příčina poranění: a pád, b transversní myelitida neznámého původu, c potápění, d konstrukce e operace f sport
I– mg za 20 minut
J– celkem mg
K– celkem mg/kg
* dostali při prvém pokusu placebo, 4–AP při druhém

Tabulka 2

Změny motorického a sensorického skóre 2 hodiny po podání vehikula (placebo) nebo 4–aminopyridinu,. Jsou ukázány celkové změny (u všech testů) jak negativních (–ve) tak positivních změn (+ve) skóre u každého pacienta. Celkové možné skóre u každého pacienta bylo 130 (motorické) a 224 (sensorické).

Subjekt	Placebo				4–AP			
	Změny skóre*				Změny skóre*			
	motorické		sensorické		motorické		sensorické	
	–ve	+ve	–ve	+ve	–ve	+ve	–ve	+ve
RB	0	0	0	0	0	0	0	0
SC	0	0	0	0	0	0	0	0
HT	0	0	0	0	0	0	0	+3
LJ	0	+1	–9	+3	0	0	0	+2
EB	0	+1	0	0	0	+4	–5	+14
GCh	0	0	0	0	0	+16	0	+27
AW	–2	0	–7	+2	0	+4	0	+20
GCu	–4	+1	–11	+6	0	+2	–2	0
Celkem	–6	+3	–27	+11	0	+26	–7	+66

* s výjimkou skóre pro citlivost na vibrace (Tabulka 3) a bez přidělených půlbodů

Tabulka 3

Změny skóre pro citlivost na vibrace 2 hodiny po podání vehikula (placebo) nebo 4–aminopyridinu. Celkové možné skóre u každého pacienta bylo 32.

Subjekt	Placebo		4–AP	
	–ve	+ve	–ve	+ve
RB	0	0	0	0
SC	0	0	0	0
HT	0	0	–7	+1
LJ	0	+2	0	0
EB	*	*	+4	0
GCh	0	0	–2	0
AW	–4	0	0	0
Gcu	–1	+3	0	0
Celkem	–5	+5	–12	+1

* údaje nezaznamenány

Tabulka 4

Změny skóre pro hluboké šlachové reflexy 2 hodiny po podání vehikula (placebo) nebo 4–aminopyridinu. Celkové možné skóre u každého pacienta bylo 32.

Subjekt	Placebo		4–AP	
	paže	nohy	paže	nohy
RB	0	+1	+4	+2
SC	0	0	+4	+1
HT	*	0	+1	–2
LJ	+2	0	*	*
EB	*	*	*	*
GCh	0	0	+4	0
AW	0	0	*	+3
GCu	0	–1	0	–2
Celkem	+2	0	+13	+2

* údaje nezaznamenány

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití 4–aminopyridinu k výrobě léčiva pro léčení bolesti a spasticity u neurologických stavů.

2. Použití podle nároku 1, k výrobě léčiva k léčení neurologického stavu, který je důsledkem poranění míchy.

3. Použití podle nároku 1, pro výrobu léčiva určeného ke snížení bolesti.

4. Použití podle nároku 3, pro výrobu léčiva určeného ke snížení bolesti u jednotlivce s poraněnou míchou.

5. Použití podle nároku 1, pro výrobu léčiva určeného ke snížení spasticity.

6. Použití podle nároku 5, pro výrobu léčiva určeného ke snížení spasticity při poranění míchy.

7. Použití podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, pro výrobu léčiva obsahujícího v jednotkové dávce 15 až 30 mg 4–aminopyridinu.

8. Použití 4–aminopyridinu podle nároku 1, pro výrobu léčiva v intravenosní nebo orální formě.

4 výkresy

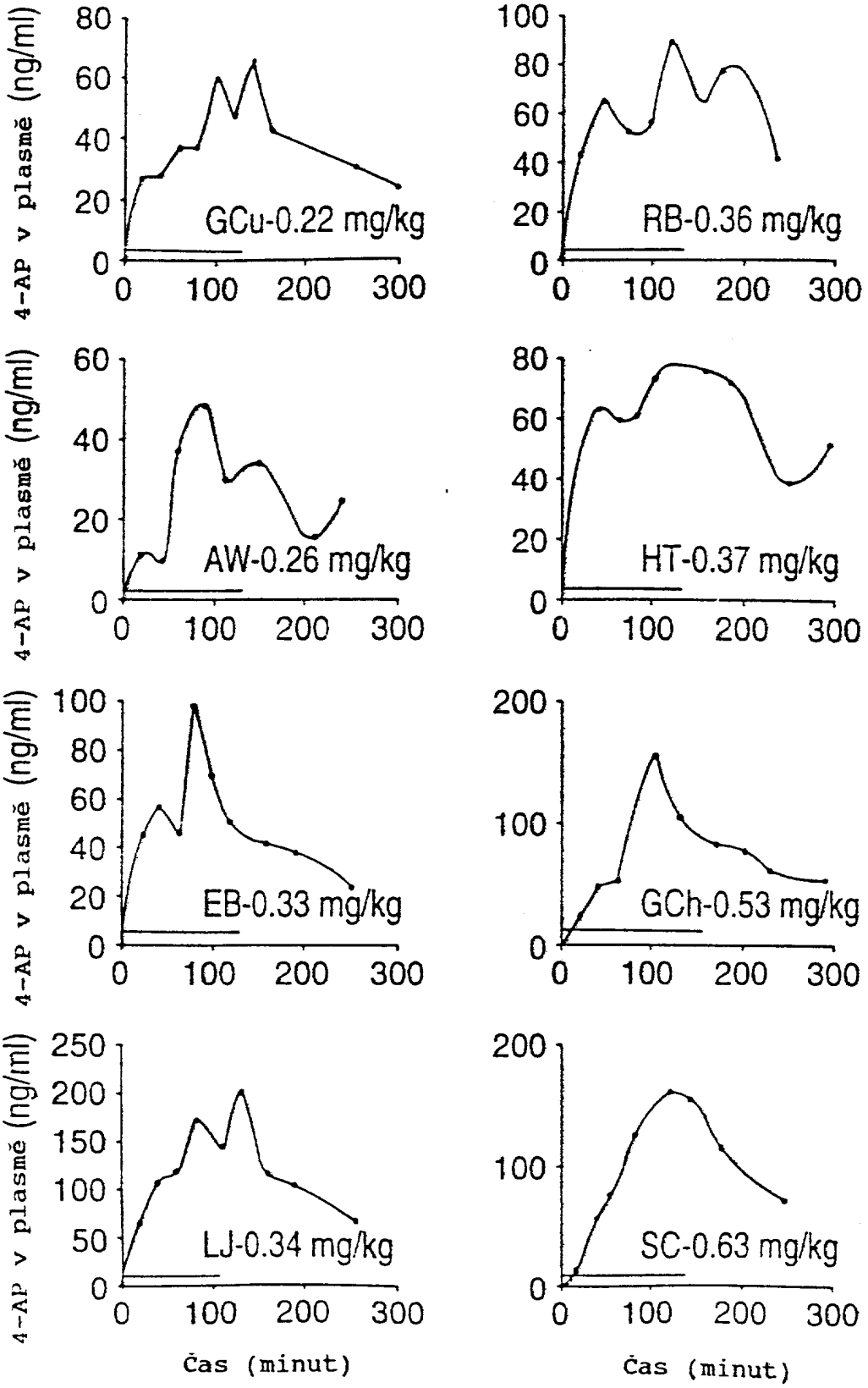

4-AP v plasmě (ng/ml)
GCu-0.22 mg/kg
RB-0.36 mg/kg
AW-0.26 mg/kg
HT-0.37 mg/kg
EB-0.33 mg/kg
GCh-0.53 mg/kg
LJ-0.34 mg/kg
SC-0.63 mg/kg
Čas (minut)
Čas (minut)

FIG.1.

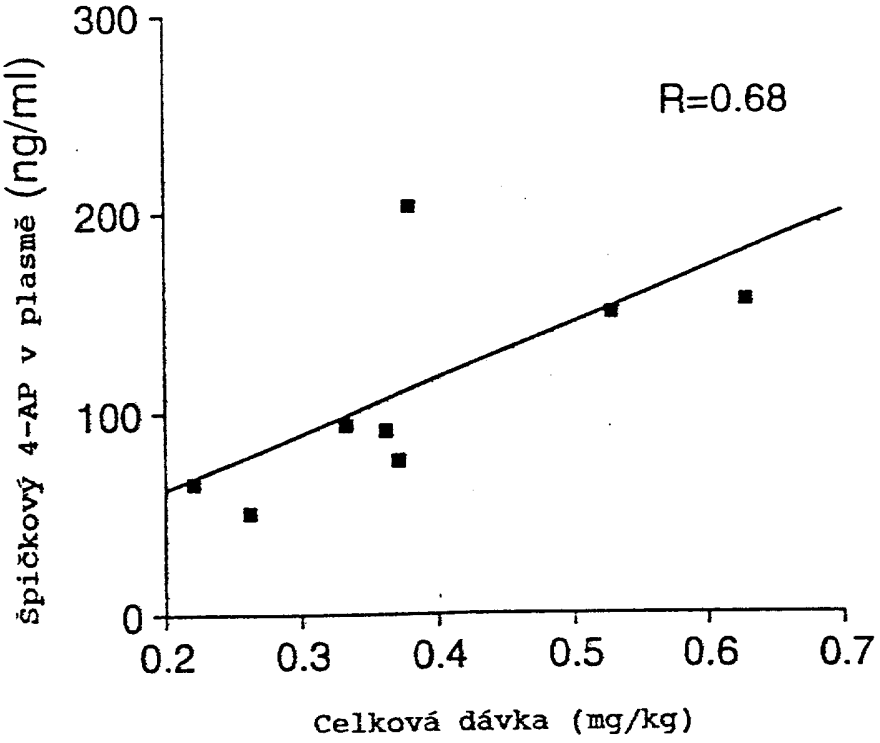

300
200
100
0
R=0.68
Špičkový 4-AP v plasmě (ng/ml)
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
Celková dávka (mg/kg)

FIG.2.

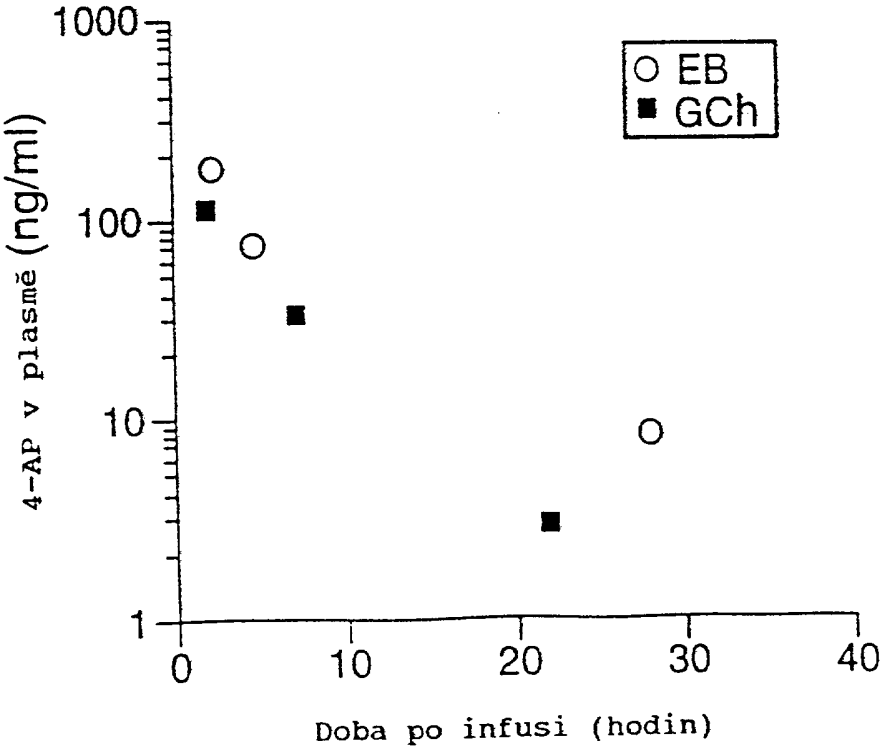

1000
100
10
1
4-AP v plasmě (ng/ml)
EB
GCh
0
10
20
30
40
Doba po infusi (hodin)

FIG.3.

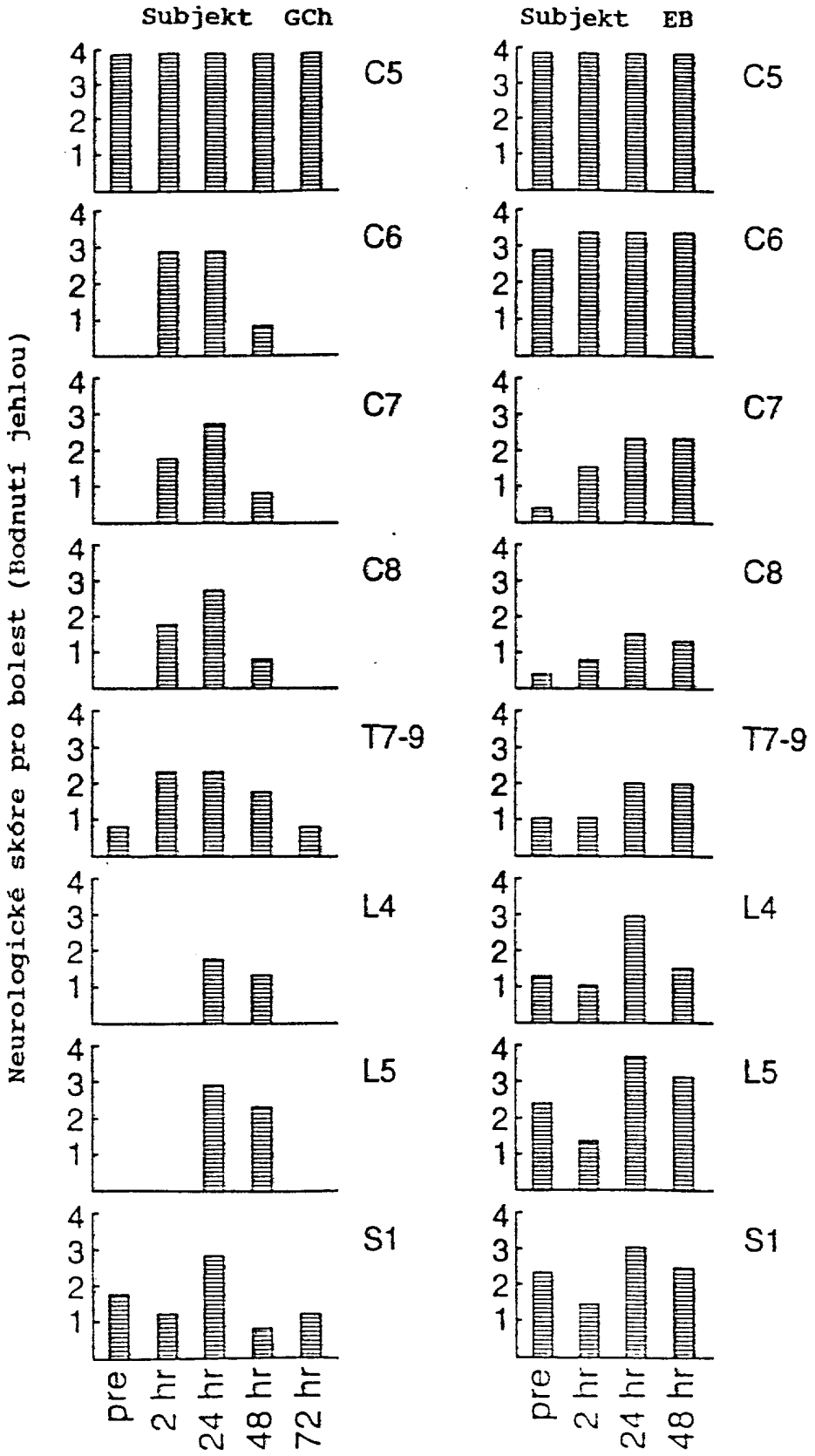

Subjekt GCh
Subjekt EB
Neurologické skóre pro bolest (Bodnutí jehlou)
C5
C6
C7
C8
T7-9
L4
L5
S1
pre
2 hr
24 hr
48 hr
72 hr

FIG.4.

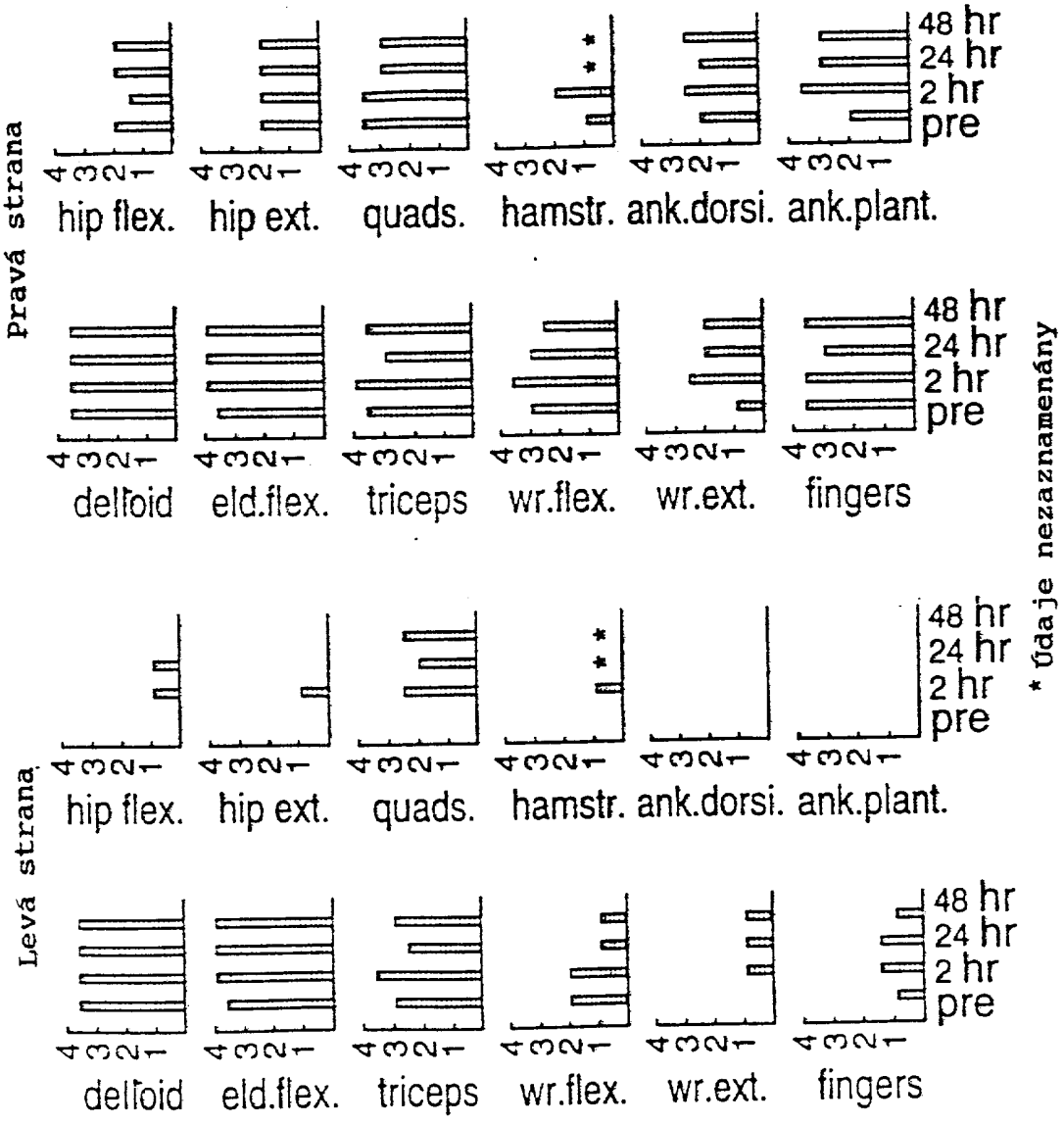


FIG.5.

Konec dokumentu