



УКРАЇНА

(19) UA (11) 89757 (13) C2
(51) МПК (2009)
A61K 38/27
A61K 48/00
A61P 25/16 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ МНОЖИННОЇ СИСТЕМНОЇ АТРОФІЇ

1

(21) a200602189
(22) 29.07.2003
(24) 10.03.2010
(86) PCT/EP03/50348, 29.07.2003
(46) 10.03.2010, Бюл.№ 5, 2010 р.
(72) БЕНГТССОН БЕНГТ-АКЕ, SE
(73) ЕЙРЕС ТРЕЙДІНГ С.А., CH
(56) ABERG N. D. et al. "GROWTH HORMONE INCREASES CONNEXIN-43 EXPRESSION IN THE CEREBRAL CORTEX AND HYPOTHALAMUS" ENDOCRINOLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 141, no. 10, October 2000 (2000-10), pages 3879-3886.
GILMAN S ET AL: "CONSENSUS STATEMENT ON THE DIAGNOSIS OF MULTIPLE SYSTEM ATROPHY" JOURNAL OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEMS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 74, no. 2/3, 1998, pages 189-192.
WO 0217951 A, 07.03.02.
WO 9721449 A, 19.06.97.
US 5869452 A, 09.02.99.
US 5736515 A, 07.04.98.
WO 0228437 A, 11.04.02.
WO 0042175 A, 20.07.2000.
(57) 1. Спосіб лікування синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема множинної системної атрофії, який включає введення хворому, який цього потребує, ефективної кількості людського соматотропного гормону (hGH).
2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що хворому вводять природний людський соматотропний гормон.

2

3. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що хворому вводять рекомбінантний людський соматотропний гормон.
4. Спосіб за будь-яким із попередніх пунктів, який відрізняється тим, що соматотропний гормон вводять у дозі від приблизно 0,1 мг на особу на добу до 10 мг на особу на добу або від приблизно 0,5 мг на особу на добу до 6 мг на особу на добу.
5. Спосіб за п. 4, який відрізняється тим, що соматотропний гормон вводять щодня або через день.
6. Спосіб за будь-яким із попередніх пунктів, який відрізняється тим, що соматотропний гормон вводять змінними добовими дозами, причому перша доза є більшою за другу дозу.
7. Спосіб за п. 6, який відрізняється тим, що перша доза становить приблизно 1 мг на особу, а друга доза становить приблизно 0,5 мг на особу.
8. Спосіб за будь-яким із попередніх пунктів, який відрізняється тим, що тижнева доза соматотропного гормону становить приблизно 6 мг на особу або приблизно 5 мг на особу чи приблизно 4,5 мг на особу.
9. Спосіб за будь-яким із попередніх пунктів, який відрізняється тим, що лікарський засіб вводиться підшкірно.
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, причому лікарський засіб вводиться внутрішньом'язово.
11. Спосіб за будь-яким із попередніх пунктів, причому згадана речовина вводиться за допомогою автоматичного ін'єктора.

Цей винахід належить до галузі неврологічних захворювань. Конкретніше, він має відношення до застосування людського соматотропного гормону для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання групи синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона і, зокрема, множинної системної атрофії (MSA).

Передумови створення винаходу

Людський соматотропний гормон (hGH), відомий також як гормон росту (INN) або соматотропін,

є білковим гормоном, що продукується і секритується соматотрофними клітинами аденогіпофізу. Людський соматотропний гормон відіграє ключову роль у рості тіла у дитинстві та у обміні речовин у дорослому віці завдяки його впливу на метаболізм білків, вуглеводів та ліпідів.

Людський соматотропний гормон являє собою один поліпептидний ланцюг, що складається зі 191 амінокислоти (Бьюлі (Bewly) та інші, 1972) і має два дисульфідні зв'язки, один з яких знаходиться

(13) C2

(11) 89757

(19) UA

між Cys-53 та Cys-165 і утворює велику петлю в молекулі, а другий знаходиться між Cys-182 та Cys-189 і утворює невелику петлю біля С-кінця. Послідовність ДНК, яка підтвердила амінокислотну послідовність, була повідомлена Мартіал (Martial) та іншими (1979). Очищений hGH у ліофілізованому вигляді являє собою аморфний порошок білого кольору. Він легко розчиняється (концентрації більше за 10мг/л) у водних буферах при рН у діапазоні від 6,5 до 8,5.

У розчині hGH існує, головним чином, у вигляді мономеру з невеликою часткою димерів та олігомерів більшої молекулярної маси. За певних умов hGH може утворювати незначні кількості димерів, тримерів та олігомерів більш високого рівня.

Існує декілька похідних hGH, у тому числі природні похідні, варіанти і продукти метаболізму, продукти розкладу, головним чином, біосинтетичного hGH, та похідні hGH, одержані методами генної інженерії. Одним із прикладів природної похідної hGH є GH-V, варіант соматотропного гормону, який знаходять у плаценті. Інші члени генного локусу описані у Чен (Chen) та інших (1989).

Метіоніл-hGH являв собою першу форму hGH, яку одержали методом рекомбінантних ДНК. Ця сполука фактично є похідною hGH, N-кінець якої має один додатковий залишок метіоніну (Геддел (Goeddel) та інші, 1979).

Повідомляли, що природний варіант hGH, який було названо 20-K-hGH, зустрічається у гіпофізі, а також у кровотоці (Льюїс (Lewis) та інші, 1978; Льюїс (Lewis) та інші, 1980). Цю сполуку без 15 амінокислотних залишків з Glu-32 по Gln-46 одержують як наслідок альтернативного сплайсингу матричної рибонуклеїнової кислоти (Деното (DeNoto) та інші, 1981). Ця сполука має багато (але не всі) біологічних властивостей hGH.

20-K-hGH продукується гіпофізом і секретується до кровотоку. Ця сполука становить приблизно 5% виділення соматотропного гормону у дорослих і приблизно 20% виділення соматотропного гормону у дітей. Вона має таку саму рістстимульвальну активність, що і соматотропний гормон із молекулярною масою 22кД і, за повідомленнями, такий самий або більший рівень ліполітичної активності, порівняно зі згаданою формою у 22кД. Ця сполука зв'язується з рецепторами соматотропного гормону з такою самою спорідненістю, що і соматотропний гормон масою 22кД і має, порівняно із останнім, одну десяту його лактогенної (пролактиноподібної) біологічної активності. На відміну від гормону масою 22кД, 20-K-hGH має слабку антиінсулінову активність.

Ряд похідних hGH виникає унаслідок протеолітичних модифікацій молекули. Головний шлях метаболізму hGH залучає протеоліз. Ділянка hGH довкола залишків 130-150 є надзвичайно сприйнятливою до протеолізу і описано декілька похідних hGH, що мають одностанцюгові розриви або делеції на цій ділянці (Торлаціус-Уссінг (Thorlacius-Ussing), 1987). Ця ділянка знаходиться у великій петлі hGH і наслідком розщеплення пептидного зв'язку є утворення двох ланцюгів, які з'єднуються через дисульфідний зв'язок на Cys-53 і Cys-165. Повідомляють, що багато з цих дволанцюгових форм мають підвищену біологічну активність (Сінг

(Singh) та інші, 1974). Багато похідних людського соматотропного гормону одержали штучним шляхом за допомогою ферментів. Ферменти трипсин і субтілізин, а також інші, застосовуються для модифікації hGH у різних точках вздовж молекули (Льюїс (Lewis) та інші, 1977; Графф (Graff) та інші, 1982). Одну з таких похідних, яку назвали дволанцюговим анаболічним білком (2-CAP), одержали шляхом контрольованого протеолізу hGH за допомогою трипсину (Бекер (Becker) та інші, 1989). Було встановлено, що біологічні властивості 2-CAP суттєво відрізняються від біологічних властивостей інтактної молекули hGH у тому відношенні, що рістстимульвальна активність hGH була значною мірою збережена, а зникла більшість видів його впливу на метаболізм вуглеводів.

Залишки аспарагіну і глутаміну у білках є сприйнятливими до реакцій дезамідування за відповідних умов. Було показано, що гіпофізарний hGH піддається реакції подібного типу, наслідком чого є перетворення Asn-152 на аспарагінову кислоту і, меншою мірою, перетворення Gin-137 на глутамінову кислоту (Льюїс (Lewis) та інші, 1981). Було показано, що дезамідований hGH має змінену сприйнятливість до протеолізу ферментом субтілізином, що дозволяє зробити припущення про те, що дезамідування може мати фізіологічне значення при спрямуванні протеолітичного розщеплення hGH. Відомо, що біосинтетичний hGH розкладається за певних умов зберігання, наслідком чого є дезамідування на іншому залишку аспарагіну (Asn-149). Це є головна ділянка дезамідування, однак спостерігається також дезамідування на Asn-152 (Бекер (Becker) та інші, 1988). Про дезамідування біосинтетичного hGH на Gin-137 не повідомлялось.

Залишки метіоніну у білках є сприйнятливими до окиснення, головним чином, до сульфоксиду. Як гіпофізарний, так і біосинтетичний hGH піддається сульфоксидуванню на Met-14 і Met-125 (Бекер (Becker) та інші, 1988). Про окиснення на Met-170 повідомлялось також у гіпофізарного, але не у біосинтетичного hGH. Було встановлено, що як дезамідований hGH, так і hGH, підданий сульфоксидуванню на Met-14, демонструють повну біологічну активність (Бекер (Becker) та інші, 1988).

Укорочені форми hGH одержали за допомогою ферментів або генетичними методами. У 2-CAP, який одержали завдяки контрольованій дії трипсину, перші вісім залишків на N-кінці hGH видалені. Інші укорочені версії hGH одержали шляхом модифікування гена перед експресією у придатному хазяїні. Видаляли перші 13 залишків з одержанням похідної, що має специфічні біологічні властивості (Гертлер (Gertler) та інші, 1986), поліпептидний ланцюг якої не розщеплюється.

Незважаючи на те, що людський соматотропний гормон первісно одержали з гіпофізів трупів, ці препарати не мали електрофоретичної однорідності і у сироватці хворих, які одержували препарати чистотою порядку 50%, з'являлись антитіла, причому імуногенність відносили на рахунок неактивних компонентів. Метод рекомбінантних ДНК надав можливість необмеженого продукування hGH у цілому ряді різних систем. Очищення hGH з культурального живильного середовища полегшу-

ється присутністю лише незначної кількості забруднюючих білків. Фактично було показано, що hGH можна очищати у лабораторному масштабі одностадійним способом на колонці оберненофазової вискоєфективної рідинної хроматографічної системи (Хсюнг (Hsiung) та інші, 1989).

Рекомбінантний людський соматотропний гормон, rhGH, виробляється фірмою Serono International S.A. під назвою SEROSTIM®. Цей продукт одержав прискорену апробацію з боку FDA (Управління із санітарного нагляду за харчовими продуктами і медикаментами (США)) для лікування втрати ваги і виснаження у хворих на СНІД. SAIZEN® являє собою рекомбінантний людський соматотропний гормон, показаний для лікування дефіциту соматотропіну (GH) у дітей, синдрому (Терешевського)-Тернера у жінок, а також хронічної ниркової недостатності у дітей. PROTROPIN®, який виробляється фірмою Genentech, Inc. (South San Francisco, штат Каліфорнія), за своєю структурою дещо відрізняється від hGH з природною послідовністю, оскільки на N-кінці має додатковий залишок метіоніну. Рекомбінантний hGH постачається на ринок, як правило, у вигляді ампул, що містять hGH плюс додаткові наповнювачі, наприклад, гліцин і маніт, у ліофілізованій формі. До набору входить ампула з розрізнувачем, завдяки чому хворий має змогу відновити продукт до бажаної концентрації перед введенням дози. Рекомбінантний hGH може постачатись на ринок іншими добре відомими способами, наприклад, у вигляді попередньо заповнених шприців тощо.

Взагалі, суттєвих різниць фармакокінетики або біологічної активності рекомбінантного hGH із природною послідовністю, рекомбінантного N-метіоніл-hGH або матеріалу гіпофізарного походження у людей не спостерігалось (Мур (Moore) та інші, 1988; Йоргенссон (Jorgensson) та інші, 1988).

У процесі розвитку ендогенний соматотропний гормон стимулює численні ключові явища і функції і безпосередньо або опосередковано діє фактично на кожну тканину тіла. Таким чином, надлишкові рецептори соматотропного гормону у зрілій центральній нервовій системі (ЦНС) можуть забезпечити можливість розробки нових терапевтичних стратегій. Окрім того, соматотропін відіграє важливу роль у процесі обміну речовин багатьох видів задовго до основного завершення росту тіла. Незважаючи на те, що довго вважалося, що дії соматотропіну повністю опосередковувались шляхом продукування печінкового інсуліноподібного фактора росту-1 (IGF-1), зараз вже зрозуміло, що GH безпосередньо викликає ефекти у багатьох тканинах, оскільки діє спільно з локально продукованим IGF-1 (а можливо і з багатьма іншими факторами росту), окрім IGF-1 із системи кровообігу.

Незважаючи на те, що соматотропний гормон синтезується головним чином у гіпофізі, відбувається також широко розгалужене ектопічне продукування на різних ділянках головного мозку (Йоханссон (Johansson), 2000). Окрім того, існує надзвичайно велика кількість рецепторів соматотропного гормону, а також IGF-1 та рецепторів IGF-1. Під час застосування соматотропного гормону для лікування ЦНС, спостерігаються також зміни

рівнів соматотропіну (GH), GH-залежних факторів і нейромедiatorів у цереброспінальній рідині (CSF). Це може вказувати на те, що до поліпшення як фізичного, так і психологічного благополуччя, що спостерігається під час лікування соматотропним гормоном дорослих із дефіцитом соматотропного гормону, є залученими нейроендокринні механізми.

Початкові експериментальні дані показали, що GH підвищує пластичність головного мозку. Наприклад, результати дослідження із застосуванням GH із радіоактивною міткою дозволили припустити існування специфічних ділянок зв'язування у ЦНС, які, однак, були нечисленними і які фактично вдалось ідентифікувати у гіпоталамічних ділянках та хоріоїдальному сплетенні, хоча припускається набагато ширше розповсюдження (Гарвей (Harvey), 1993). Фізіологічний ефект GH у ЦНС полягає у пригніченні його власного виділення, як частини ланцюга автоматичного зворотного зв'язку (Танненбаум (Tannenbaum), 1980).

Хворі з дефіцитом соматотропіну (GHD) мають підвищений рівень ймовірних проблем зі здоров'ям. Ці хворі, як група, є менш енергійними, менш фізично рухливими і більш соціально ізольованими (Йоханссон (Johannsson) та інші, 2000). На додаток до цього, вони гірше сплять і мають ослаблену функцію пам'яті. Ці хворі скаржаться, головним чином, на втому, низьку енергійність, відсутність ініціативи, неможливість зосередження уваги, труднощі з пам'яттю та дратівливість.

Під час лікування GH енергійність підвищувалась, настрій і функція пам'яті поліпшувались. Зміни, що спостерігались, свідчили про нормалізацію, оскільки подібні рівні енергійності, настрою та пам'яті спостерігаються у здорових людей.

Дефіцит GH і, зокрема, лікування GH пов'язуються з різноманітними змінами головних нейромедiatorів центральної нервової системи, їх біосинтетичних ферментів або їх рецепторів (Андерссон (Andersson), 1983), однак фізіологічна роль ендогенного GH, який безпосередньо справляє дію на ці системи, все ще не встановлена. Незважаючи на значну невиявленість і нерозпізнаність, GH здійснює ряд нейротропних дій (стимуляція проліферації нейронів та глії, посилення мієлінізації та підвищення розміру головного мозку), у той час, як дефіцит GH пов'язується з дефіцитом розвитку головного мозку (Еліас Ерікссон (Elias Eriksson), 1985).

Раніше проведене одномісячне подвійне сліпе плацебо-контрольоване дослідження показало, що наслідком лікування GH дорослих із дефіцитом GH є приблизно десятикратне підвищення вмісту GH у цереброспінальній рідині. Окрім того, під час лікування GH, середнє підвищення концентрації IGF-1 у цереброспінальній рідині становили приблизно 50%, концентрація гомованілінової кислоти (HVA) (метаболіту допаміну) (Гарвей (Harvey) та інші, 1993) у цереброспінальній рідині зменшилась, а імунореактивність β-ендорфіну у цереброспінальній рідині зросла. Зниження концентрації HVA у цереброспінальній рідині вказує на те, що GH впливає на метаболізм у ЦНС, що співпадає з даними, які одержали під час раніше проведених досліджень на тваринах та з результатами дослі-

дження, проведеного Барман та іншими (Барман (Burman) та інші, 1995). Видається ймовірним те, що ці нейроендокринні зміни можуть бути залученими до поліпшення психологічного благополуччя під час лікування GH дорослих, що страждають на дефіцит GH.

Група синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона (Parkinsonism-Plus syndromes, Parkinsonian-Plus syndromes, Parkinson-Plus syndromes), являє собою групу захворювань, що відрізняються від класичної хвороби Паркінсона. Група синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, включає такі захворювання: прогресуючий супрануклеарний параліч (відомий спеціалістам як PSP), множинна системна атрофія (відома спеціалістам як MSA), бічний аміотрофічний склероз Паркінсона-деменція Гуама (Guam), генералізована хвороба тіла Леві (Lewy), кортикобазальна гангліонарна дегенерація (CGD), синдром перекривання хвороби Альцгеймера і хвороби Паркінсона, хорея Гентингтона (ригідний варіант), хвороба Галлервордена-Шпатца (Hallervorden-Spatz) і синдром Герстманна-Штрасслера (Gerstmann-Strausler).

Щодо PSP, поява симптомів, як правило, відбувається у віці між 55 роками і 70 роками, у той час як їх поява у віці до 50 років є рідким явищем. З моменту першого опису цього захворювання були запропоновані різні набори клінічних критеріїв. Двома найспецифічнішими симптомами, що становлять основу клінічного діагнозу, є супрануклеарний параліч очних м'язів, у тому числі нездатність переміщення погляду у відповідь на тактильні подразники, і постуральна нестабільність з випадками раннього падіння. До критеріїв, запропонованих Літван (Litvan) та іншими у 1996 році, були додатково включені важливі критерії за методом виключення, а саме добрий та тривалий ефект лікування препаратом леводопа, синдром "чужої руки", галюцинаторний синдром, кортикальна деменція, мозочкові симптоми та ранні симптоми родинної вегетативної дисфункції (симптоми синдрому Райлі-Дея). Повідомлялось про характерні патологічні зміни на мікроскопічному рівні, а саме сплетіння (клубки) нейрофібрил, нейропіліїв та загибель нейронів у globus pallidus, substantia nigra, верхньому горбику, сірій речовини довкола каналів, передпокровних ділянках, стовбурі головного мозку і довгастому мозочку.

Патогенез PSP може пов'язуватись з аномальним метаболізмом цитоскелетних компонентів (нейрофіламентів) із накопиченням тау-білка у нейронах та нейрогліальних клітинах. PSP вважається спорадичним розладом, але зі спадковою причиною, наприклад, із генетичною варіацією, пов'язаною з тау-геном. Ранніми симптомами є двостороння брадікінезія з ригідністю аксіального типу, яка може навіть бути відсутньою у кінцівках. Це захворювання завжди має прогресуючий характер і видається менш варіабельним, ніж паркінсонізм і MSA. Це захворювання частіше уражає чоловіків, які мають гірший прогноз, у той час як жінки та хворі з більш ранньою появою захворювання можуть мати дещо кращий прогноз. Через декілька років клінічна картина захворювання стає більш зрозумілою. Рухи очей уповільнюються, спочатку у горизонтальній, потім у вертикальній

площинах. Хворому стає важко зосереджувати увагу і дивитися у очі лікарю. Хворий має широко відкриті очі унаслідок мимовільної стійкості імобілізації очей. На пізніших стадіях PSP, як правило, спостерігають супрануклеарний офтальмопарез з паралічем нижніх очних м'язів і прямокутними конвульсивними сипаннями очного яблука. Хо́да стає незграбною з відведенням рук, хитанням під час повороту і випрямленим положенням тіла. Описують типовий вираз "подиву" на обличчі. Хворий часто відкидає наявність тяжких проблем унаслідок порушення функції лобної частки головного мозку. Тяжка постуральна нестабільність стає найбільш вираженою у середині перебігу хвороби і може являти головну проблему. Унаслідок падіння можуть траплятись численні травми з переломами рук і ніг, навіть летальні травми.

Кортикобазальна дегенерація (CBD) вперше була описана у 1968 році і багатьма вважається хворобою з найважчою постановкою діагнозу на ранніх стадіях розвитку. CBD є рідким захворюванням і надійних даних щодо її поширення немає. Середній вік появи клінічних ознак становить 60-65 років. Клінічна картина, порівняно з хворобою Паркінсона, з часом починає відрізнятись. Головною відмінністю цієї патології від хвороби Паркінсона є присутність великих набухлих ахроматичних нейронів. Виявляють атрофію як кортикальних, так і базальних структур, тобто базальних гангліїв, substantia nigra і стовбура головного мозку. Симптоми захворювання, як правило, з'являються в одній з верхніх кінцівок. Нижня кінцівка на цьому самому боці уражається до того, як буде залученим протилежний бік. Прояви можуть підрозділятись на три категорії: симптоми, що вказують на ураження 1) кори головного мозку, 2) базальних гангліїв або 3) залучення інших структур. Часто спостерігається дистонія. У разі присутності тремору під час діяльності, картину можна сплутати з картиною есенціального (ідіопатичного) тремору. З часом тремор стає міоклональним. На ранніх стадіях подеколи може з'являтись апраксія, що може підказати діагноз, але подібну картину може дати і ураження судин. Через декілька років з'являється характерне явище "чужої кінцівки". Втрата чутливості корою головного мозку є пізнім симптомом, який може виявитись корисним для відрізнєння цього синдрому від хвороби Паркінсона. Інші симптоми, наприклад, супрануклеарний офтальмопарез, дизартрія, дисфагія, пірамідальні симптоми, є пізніми ознаками цього захворювання. Асиметрія симптомів є, однак, постійною, завдяки чому ризик сплутання цього синдрому з PSP є незначним.

Після хвороби Альцгеймера (AD) другою найпоширенішою причиною дегенеративної деменції у літніх людей є розсіяна хвороба тіла Леві (DLBD). Однак клінічна диференціація цих двох розладів є важкою справою. У разі DLBD повідомлялось про порушення ходи, ригідність, тремор у стані покою на ранніх стадіях захворювання, а також психоз та деменцію. Особливо характерними для DLBD є складні зорові галюцинації на ранній стадії захворювання. Для діагностування ймовірної DLBD, на додаток до прогресуючого погіршення пізнавальної здатності, необхідними є два з наведених ниж-

че критеріїв, а для діагностування можливої DLBD необхідним є один з цих критеріїв (MSA): 1) Нестійкість пізнавальної здатності з явно вираженими змінами зосередження уваги і настороженості. 2) Повторювані, як правило, добре сформовані зорові галюцинації. 3) Рухові ознаки паркінсонізму. До числа підтримувальних ознак, що не є необхідними для постановки діагнозу, належать повторні падіння, непритомність, періодична втрата свідомості, чутливість до нейролептичних препаратів, систематизовані марення та галюцинації в інших модальностях.

Множинна системна атрофія (MSA) являє собою нейродегенеративний розлад, наслідком дегенерації ділянок головного мозку при якому є порушення контролювання рухів, рівноваги, кров'яного тиску, функції статевих органів та сечових шляхів.

MSA являє собою окрему клініко-патологічну одиницю (Гілман (Gilman) та інші, 1998). Хворих позначають як MSA-P, якщо переважають ознаки паркінсонізму або MSA-C, якщо переважають ознаки з боку мозочка. MSA-M являє собою змішаний підтип, що включає хворих із пірамідальними або мозочковими симптомами.

MSA, як правило, з'являється на п'ятому-десятиріччі життя з дещо більшою поширеністю серед чоловіків. У хворих, як правило, спочатку порушується функція вегетативної нервової системи. Найчастішою початковою скаргою з боку жінок є порушення функції сечостатевого апарату, у той час як найчастішою початковою скаргою з боку чоловіків є імпотенція. Поширеною є ортостатична гіпотензія, яка може спричинювати запаморочення, погіршення зору, біль у голові або ший, позіхання, тимчасову сплутаність свідомості, нерозбірливу мову, а у разі, якщо гіпотензія є високою, хворий може втрачати свідомість, підіймаючись із лежачого положення.

MSA відрізняється від класичної хвороби Паркінсона за деякими важливими аспектами: ранній початок (на 5-10 років раніше, аніж у разі паркінсонізму), мінімальна реакція на лікування препаратом L-ДОФА, швидке прогресування і виживаність, яка рідко перевищує 7 років після постановки діагнозу. У той час як при хворобі Паркінсона основне ураження припадає, головним чином, на одну систему (екстрапірамідні шляхи), у разі MSA пошкоджуються численні нейронні системи. Поширення MSA становить 5-15:100000, і на її рахунок можна віднести 10% хворих із клінічно ідіопатичним паркінсонізмом. Причина є невідомою, унаслідок чого невідомим є і лікування.

Висувають гіпотезу, що симптоми MSA є пов'язаними з прогресивною дегенерацією нейронів (Холмберг (Holmberg) та інші, 1998). Було показано, що хворі на MSA мають підвищені рівні маркерів нейродегенерації у цереброспінальній рідині.

Можливо, що множинна системна атрофія (MSA) є захворюванням, що найчастіше піддається диференціальній діагностиці порівняно з хворобою Паркінсона, як нозологічна одиниця розладу рухової діяльності, і може охоплювати до 10% усіх хворих із діагностованим паркінсонізмом (Куїн (Quinn), 1989). MSA складається з 3 частин: синдром Шай-Дрегера, дегенерація екстрапірамідної

системи і олівомостомозочкова атрофія. Як згадувалось вище, множинна системна атрофія (MSA) являє собою нейродегенеративний розлад, наслідком дегенерації ділянок головного мозку при якому є порушення контролювання рухів, рівноваги, кров'яного тиску, функції статевих органів та сечових шляхів.

Початок захворювання є змінним. Найраніші випадки зареєстровані у четвертому десятиріччі життя, у той час як за результатами вивчення випадків, підтверджених даними автопсії, середній час початку становить п'ятдесятирічний вік (Веннінг (Wenning), 1996). Спостерігається деяка перевага чоловіків.

Термін MSA означає хронічний дегенеративний розлад, що викликає різні комбінації симптомів із боку базальних гангліїв, пірамідних шляхів, мозочка, стовбура головного мозку і вегетативної нервової системи. Номенклатура різних проявів MSA була змінною, що, ймовірно, уповільнило обізнаність з цим захворюванням. Для хворих із переважними симптомами паркінсонізму було запропоновано термін MSA-SND, у той час як термін MSA-OPCA може вживатись у разі встановлення переваги мозочкових симптомів (Куїн (Quinn), 1989). Впродовж дев'яностих років минулого століття цю номенклатуру піддавали додатковому обговоренню. MSA-P і MSA-C також є термінами, які буди запропоновані як опис різних проявів захворювання з перевагою симптомів паркінсонізму та симптомів із боку мозочка, відповідно. Були запропоновані різні набори діагностичних критеріїв (Куїн (Quinn), 1989). Систематичного аналізу цих критеріїв досі не проводили, хоча у середовищі невропатологів ретроспективно оцінювали точність клінічного діагностування MSA (Літван (Litvan), 1997). Уже під час першого клінічного аналізу була встановлена вища за 90% специфічність ідентифікування MSA, у той час як рівень чутливості, незважаючи на повторні оцінки, залишався низьким.

Нейропатологічні знахідки включають специфічні гліоцитоплазматичні тільця включень, гліоз і загибель нервових клітин у зовнішній (латеральній) частині сочевицеподібного ядра, substantia nigra, basis pontis, нижніх олівах, листках мозочка, проміжно-медіальній стовпчастій структурі спинного мозку і ядрі Онуфа (Данієл (Daniel), 1999). Захворювання, на додаток до цього, уражає такі ділянки, як locus ceruleus, дорсальне ядро блукаючого нерва, пірамідний шлях і клітини переднього рога спинного мозку (Веннінг (Wenning), 1996; Веннінг (Wenning), 1997; ван дер Екен (Van der Ecken) та інші, 1960).

MSA, як правило, є спорадичним захворюванням (Бандмен (Bandmann) та інші, 1997). Перебіг захворювання є гетерогенним, що додатково відображається різними позначеннями його зовнішнього прояву.

Поширеною особливістю MSA є порушення функції вегетативної нервової системи, що може проявляти себе передсинкопальними нападами, нетриманням сечі або розладом статевої функції (Веннінг (Wenning), 1994). Іншими менш специфічними ознаками недостатності вегетативної нервової системи є запаморочення, біль у м'язах, запор і

втомлюваність. Холодні смагляві руки також можуть викликати підозру на MSA (Клейн (Klein) та інші, 1997). Прогноз стає несприятливим у разі розвитку зниження кров'яного тиску з повторною непритомністю. Більше 40% пацієнтів у межах п'яти років стають прикутими до крісла-каталки унаслідок порушення рухової функції.

Індивідуальні прогнози можуть значно різнитися. Повідомляли про хворих на MSA з тривалістю захворювання більше за 20 років (Веннінг (Wenning), 1997), у той час як середня виживаність у випадках, підтверджених даними автопсії, де була схильність до більш агресивного перебігу, за повідомленнями становить від шести до дев'яти років із моменту початку (Веннінг (Wenning), 1997; Веннінг (Wenning), 1994).

Депресія і розлади, що супроводжуються тривогою, є поширеними як на початкових, так і на пізніших стадіях перебігу усіх синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, часто з доброю реакцією на антидепресанти.

Діагностична допомога у формі лабораторних методів досі оцінювалась лише на відносно невеликій кількості експериментальних, клінічно діагностованих або посмертно підтверджених випадків. Методи з високою чутливістю (кількість дійснопозитивно передбачених тестом діагнозів/загальна кількість хворих із цим захворюванням) і специфічністю (кількість дійснонегативно передбачених тестом діагнозів/загальна кількість хворих без цього захворювання), а також методи, що забезпечують кількісний аналіз даних, є перспективними і можуть надати допомогу у разі постановки клінічного діагнозу.

Для хворих на MSA, як правило, надають результати ЯМР-томографії, причому ця методика подеколи виявляється корисною для відрізнєння MSA-P від хвороби Паркінсона і прогресуючого супрануклеарного параліча (PSP). Зокрема, комбінація змін гіпо- та гіперінтенсивних сигналів зовнішньої (латеральної) частини сочевицеподібного ядра на T2-зважених ЯМР-томографічних послідовностях вважається високоспецифічною для діагнозу, незважаючи на те, що чутливість є низькою (Шперг (Schrage), 1998; Крафт (Kraft), 1999). Ці дані можуть бути корисними при відрізнєнні деяких MSA-P хворих із позитивною реакцією на препарат леводопа від хворих із хворобою Паркінсона. Окремі гіпоінтенсивні зміни в зовнішній (латеральній) частині сочевицеподібного ядра також є поширеними при MSA, однак вони є менш специфічними, оскільки про них повідомляють також у разі хвороби Паркінсона і PSP (Шперг (Schrage) та інші, 1998). Повідомлялось також про інфратенторіальні аномалії; спостерігаються поперечні волокна мосту, які, завдяки підвищеній напруженості мосту, нагадують хрест, і дифузна підвищена напруженість середніх ніжок мозочка з одночасною атрофією (Шперг (Schrage), 1998). Ці інфратенторіальні зміни можуть лише бути підтримкою клінічного діагнозу, оскільки їм передують типова комбінація симптомів із боку мозочка та стовбура головного мозку, вже за якими MSA відрізняють від хвороби Паркінсона і PSP.

Клінічна реакція на препарат леводопа є важливою особливістю у кожному наборі діагностич-

них критеріїв для розладів, що нагадують паркінсонізм. Декілька авторів пропонували однодозову пробу апоморфіном (Хьюз (Hughes), 1990) або препаратом леводопа (Хьюз (Hughes) та інші, 1991; Россі (Rossi) та інші, 2000), як інструмент диференціювального діагнозу та прогнозування довгострокових ефектів лікування.

Проба за допомогою препарату леводопа з реєстрацією постурально-локомоторно-мануальних показників може надати додаткову діагностичну інформацію. Ця проба являє собою складне випробування рухових функцій усього тіла і потребує того, щоб хворий був здатним до пересування без сторонньої допомоги.

Маркери дегенерації нейронів та гліозу з'явилися нещодавно як потенційні методи діагностування, прогнозування і оцінки лікування (Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1994; Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1996). Дегенерація нейронів та реактивність глії за різних умов із гострим або хронічним пошкодженням центральної нервової системи може бути ідентифікована високими концентраціями різноманітних специфічних для головного мозку білків у цереброспінальній рідині (CSF) (Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1999). Більше того, вони надають дані, які по суті не пов'язують із клінічними діагностичними критеріями різних розладів, що нагадують паркінсонізм.

Нейрофіламент являє собою головний структурний елемент нейронів, де він підтримує точний розмір аксона, розмір і форму нейронів. Високі рівні нейрофіламента були виявлені у цереброспінальній рідині хворих із бічним аміотрофічним склерозом і хворобою Альцгеймера, а також при інших нейродегенеративних розладах. Висунули припущення про те, що нейрофіламент у цереброспінальній рідині може застосовуватись як маркер дегенерації аксонів (Розенгрєн (Rosengren), 1996).

Гліальний фібрилярний кислий (GFA) білок є головним білком астрогліальних клітин, що експресується, головним чином, у фібрилярних астрогліальних клітинах. На концентрацію гліального фібрилярного кислого білка у цереброспінальній рідині впливають різні патологічні стани головного мозку. Високі рівні гліального фібрилярного кислого білка спостерігались як наслідок гострого пошкодження центральної нервової системи і розкладу астрогліальних клітин (Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1994). У разі хронічних розладів головного мозку з гліозом, наприклад, деменції, розсіяного склерозу та хронічних енцефалопатій, рівні гліального фібрилярного кислого білка були підвищеними (Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1994; Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1995). Унаслідок цього було висунуто припущення, що гліальний фібрилярний кислий білок може застосовуватись як цереброспінально-рідинний маркер як розкладу тканини центральної нервової системи, так і астрогліозу (Розенгрєн (Rosengren) та інші, 1994).

Кімбер (Kimber) та інші (1997) повідомив про придатність клонідинової дагностичної проби для ідентифікації хворих на MSA. Після внутрішньовенної ін'єкції клонідину здійснювали повторні визначення рівня соматотропіну (GH). Було встановлено, що група хворих на MSA має значно знижену реакцію на клонідин, порівняно з хворими на хво-

робу Паркінсона. Згадану пробу було запропоновано як індикатор недостатності вегетативної нервової системи, що вказує на втрату катехоламінергічних нейронів довгастого мозочка, які іннервують гіпоталамус. При проведенні додаткового дослідження (Кімбер (Kimber) та інші, 2000) було встановлено, що концентрації GH після ін'єкції клонідину є значно нижчими у групі хворих на MSA, порівняно як з контрольними групами, так і з групою хворих на PSP, завдяки чому одержали діагностичну пробу для відрізнення MSA від інших нейродегенеративних захворювань.

Суть винаходу

Основою цього винаходу є встановлення того факту, що людський соматотропний гормон благотворно діє на хворих, що страждають на захворювання, яке належить до групи синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, а саме на множинну системну атрофію. Таким чином, цей винахід має відношення до застосування речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс" (відомого спеціалістам як Parkinsonism-Plus Syndrome). Згадана речовина є особливо придатною для лікування та/або запобігання множинної системної атрофії (MSA), що являє собою захворювання, яке все ще не піддається лікуванню і чітко відрізняється від класичної хвороби Паркінсона.

Цей винахід додатково має відношення до застосування нуклеїновокислотної молекули, що містить кодувальну послідовність речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема MSA.

Застосування вектора, що індукуює та/або посилює ендogenous продукування речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема MSA, також знаходиться у рамках цього винаходу.

Цей винахід додатково має відношення до клітини, яка була генетично модифікована для продукування речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема MSA.

Докладний опис винаходу

Основа цього винаходу становить той факт, що множинна системна атрофія (MSA), розлад, що належить до групи синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, може лікуватись шляхом введення ефективної кількості людського соматотропного гормону.

Таким чином, цей винахід має відношення до застосування речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH, для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс".

За варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, синдром "паркінсонізм-плюс", вибраний із групи, до складу якої входять прогресуючий супрануклеарний параліч (PSP), множинна системна атрофія (MSA), бічний аміотрофічний склероз Паркінсона-деменція Гуама, генералізована хвороба тіла Леві, кортикобазальна гангліонарна дегенерація, синдром перекривання хвороби Альцгеймера і хвороби Паркінсона, хорея Гентингтона (ригідний варіант), хвороба Галлервордена-Шпатца і синдром Герстманна-Штрасслера.

Ці захворювання, а також можливості їх діагностування, взаємного відрізнення, а також відрізнення від інших неврологічних захворювань, були докладно описані вище у розділі "Передумови створення винаходу".

За варіантом здійснення, якому віддають особливу перевагу, синдромом "паркінсонізм-плюс" є множинна системна атрофія. MSA є окремою клініко-патологічною одиницею (Гілмен (Gilman), 1998), тобто вона, наприклад, характеризується тим, що на відміну від хворих, що страждають на хворобу Паркінсона, хворі, що страждають на MSA, демонструють, як правило, лише мінімальну реакцію на лікування препаратом леводопа (L-ДОФА). Проби для оцінки клінічної реакції на препарат леводопа були описані вище у розділі "Передумови створення винаходу". Ціллю винаходу може бути MSA будь-якого типу, у тому числі MSA-P, MSA-C та MSA-M, MSA-SND або MSA-OPCA, як описані вище у розділі "Передумови створення винаходу".

Терміни "лікування" та "запобігання", що застосовуються у цьому описі, слід розуміти як часткове або повне попередження, пригнічення, поліпшення, поліпшення або зміни напрямку одного або декількох симптомів або причин(-и) синдрому "паркінсонізм-плюс", а також симптомів, захворювань або ускладнень, що супроводжують синдром "паркінсонізм-плюс". У разі "лікування" синдрому "паркінсонізм-плюс", речовини за цим винаходом вводять після початку захворювання; "запобігання" означає введення згаданих речовин до того, як ознаки захворювання будуть діагностовані або проявляться у хворого.

За варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, згадана речовина вибрана з групи, яку складають:

- a) людський соматотропний гормон;
- b) фрагмент (a), який виявляє агоністичну активність на рецептор hGH;
- c) варіант (a) або (b), який має щонайменше 70% ідентичність послідовності з (a) або (b) і який виявляє агоністичну активність на рецептор hGH;
- d) варіант (a) або (b), який кодується послідовністю ДНК, яка гібридується з комплементом послідовності нативної ДНК, що кодує (a) або (b)

за умов помірної жорсткості, і який виявляє агоністичну активність на рецептор hGH; або

е) сіль або функціональна похідна (а), (b), (c) або (d), яка виявляє агоністичну активність на рецептор hGH.

Термін "людський соматотропний гормон" або "hGH", що застосовується у цьому винаході, означає природні і синтетичні похідні, як зазначалось вище, у тому числі, без обмежень, як 20кД, так і 22кД людський соматотропний гормон, GH-V і інші члени генного локусу соматотропного гормону, як докладно описувалось у розділі "Передумови створення винаходу".

hGH може бути природним людським соматотропним гормоном або, за варіантом здійснення, якому віддають перевагу, це може бути рекомбінантний hGH. Рекомбінантний GH може бути експресованим у будь-якому придатному хазяїні, будь-то у прокаріотному, або в еукаріотному хазяїні. Хазяїном, особливо придатним для експресії hGH є, наприклад, *E. coli*. Клітини дріжджів, комах або ссавців також є придатними для експресії рекомбінантного соматотропного гормону. За варіантом, якому віддають перевагу, hGH експресується в людських або тваринних клітинах, наприклад, у клітинах яєчника китайського хом'ячка (CHO).

Термін "hGH" або "соматотропний гормон", що вживається у цьому описі, включає також функціональні похідні, фрагменти, варіанти, аналоги або солі, які зберігають біологічну активність соматотропного гормону, тобто які діють на рецептор соматотропного гормону як агоністи. Іншими словами, вони є здатними до зв'язування з рецептором соматотропного гормону для ініціювання активності рецептора, пов'язаної з передачею сигналу.

Термін "функціональні похідні" або "хімічні похідні", що застосовується у цьому описі, означає похідні, які можна одержати з функціональних груп, які знаходяться, як бічні групи, на залишках N- або C-кінцевих груп, засобами, відомими у цій галузі, і які включають до цього винаходу доти, доки вони залишаються фармацевтично прийнятними і не знищують біологічної активності hGH, як описано, тобто здатності зв'язування з рецептором hGH і ініціювання передачі сигналів рецептором, і не надають токсичних властивостей композиціям, що їх містять. Похідні можуть містити хімічні складові, наприклад, залишки вуглеводів або фосфатів, за умови, що така похідна зберігає біологічну активність hGH і залишається фармацевтично прийнятною.

Похідні можуть включати, наприклад, складні аліфатичні ефіри карбоксильних груп, амідні карбоксильних груп, які одержують шляхом реакції з аміаком або первинними чи вторинними амінами, N-ацильні похідні або вільні аміногрупи залишків амінокислот, одержані з ацильними складовими (наприклад, алканоїльними або карбоциклічними ароїльними групами) або O-ацильні похідні вільної гідроксильної групи (наприклад, вільної гідроксильної групи залишків серилу або треонілу), одержані з ацильними складовими. Такі похідні можуть також включати, наприклад, бічні ланцюги поліетиленгліколю, які можуть маскувати ділянки детермінанти і подовжувати перебування молекули в рідинах у тілі людини.

Особливе значення має соматотропний гормон, який був дериватизований або об'єднаний з комплексоутворювачем для забезпечення пролонгованої дії. Таким чином, варіант здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, має відношення до поліетиленгліколізованих варіантів людського соматотропного гормону. Соматотропні гормони, одержані методами генної інженерії для забезпечення пролонгованої активності у тілі, також є прикладами похідних hGH, що входять до обсягу цього винаходу.

Виділили та ідентифікували hGH, ацетильований на N-кінці (Льюїс (Lewis), 1979). Незрозуміло, чи відіграє ацилювання регуляторну роль, чи це є просто артефактом очищення. Очікують, однак, що ця молекула продемонструє анти-MSA активність подібно іншим похідним hGH. Таким чином, за варіантом, якому віддають перевагу, цей винахід має відношення до людського соматотропного гормону, ацетильованого на N-кінці.

Додатковими хімічними похідними за цим винаходом, яким віддають перевагу, є дезамінований hGH або hGH, підданий сульфоокисненню на одному або декількох залишках метіоніну.

За варіантом, якому віддають перевагу, лікарський засіб за цим винаходом містить димер людського соматотропного гормону, вибраний з групи, що включає дисульфідний димер, зв'язаний через міжланцюгові дисульфідні зв'язки, ковалентний необоротний недисульфідний димер, нековалентний димер та їх суміші.

Термін "солі" у цьому описі означає як солі карбоксильних груп, так і солі аміногруп молекули hGH, одержані доданням кислоти, або їхні аналоги. Солі карбоксильної групи можуть бути одержані засобами, відомими у цій галузі, і включати неорганічні солі, наприклад, солі натрію, кальцію, амонію, заліза або цинку тощо і солі з органічними основами, наприклад, солі, одержані з амінами, наприклад, триетаноламіном, аргініном або лізіном, піперидином, прокатом тощо. Солі, одержані доданням кислоти, включають, наприклад, солі, одержані за допомогою мінеральних кислот, наприклад, хлористоводневої кислоти або сірчаної кислоти, або солі, одержані за допомогою органічних кислот, наприклад, оцтової кислоти або щавлевої кислоти. Будь-які з таких солей, звичайно, повинні зберігати біологічну активність hGH за цим винаходом, тобто здатність до зв'язування з рецептором hGH і ініціювання передачі сигналу рецептором.

За додатковим варіантом, якому віддають перевагу, цей винахід має відношення до фрагмента людського соматотропного гормону.

"Фрагмент" соматотропного гормону за цим винаходом означає будь-який піднабір молекули, тобто коротший пептид, що зберігає бажану біологічну активність. Фрагменти можна легко одержати шляхом видалення амінокислот із будь-якого кінця молекули hGH і перевірки одержаного продукту на його властивості, як агоніста рецептора hGH. Протеази для видалення за один раз однієї амінокислоти з N- або C-кінця поліпептиду є відомими, тому визначення фрагментів, що зберігають бажану біологічну активність потребує лише звичайного експериментування.

За варіантом, якому віддають перевагу, фрагменти hGH за цим винаходом можуть мати внутрішні делеції доти, доки згадана делеція не впливає на біологічну активність hGH, тобто на зв'язування та ініціювання передачі сигналу через рецептор hGH. Перевагу віддають фрагменту за цим винаходом без 15 амінокислот з глутамінової кислоти (Glu) 32 по глутамінову кислоту (Glu) 46.

Фрагменти hGH можуть додатково укорочуватись на C- або N-кінці. Перевагу за цим винаходом віддають також укороченим hGH без перших восьми N-кінцевих залишків або перших 13 N-кінцевих залишків людського соматотропного гормону.

Було описано короткий C-кінцевий фрагмент hGH, що зберігає біологічну активність hGH (дивись патент США №5,869,452). Таким чином, перевагу за цим винаходом віддають застосуванню C-кінцевого фрагмента hGH. Особливу перевагу за цим винаходом віддають фрагменту hGH 177-191, що містить щонайменше амінокислотні залишки 177-191 hGH (LRJVQCRSVEGSCGF). Додаткову перевагу віддають похідним цього пептиду, наприклад, варіантам пептиду, описаним у патенті США № 6,335,319 або WO 99/12969, наприклад, циклічним пептидам.

На додаток до цього, поліпептид, який має таку агоністичну активність відносно рецептора hGH, якщо це є hGH, аналог або варіант, сіль, функціональна похідна або його фрагмент, може також містити додаткові амінокислотні залишки, що фланкують поліпептид hGH. Доки одержана молекула зберігає агоністичну здатність корового поліпептиду відносно рецептора hGH, визначення того, чи впливають такі фланкуючі залишки на основні і нові характеристики корового пептиду, тобто на його агоністичні характеристики щодо рецептора, може здійснюватись шляхом звичайного експериментування.

Прикладом такого варіанта GH, якому віддають перевагу за цим винаходом, є метіоніл-людський соматотропний гормон (Met-hGH), який має додатковий залишок метіоніну на N-кінці людського соматотропного гормону.

Варіанти hGH, яким віддають перевагу за цим винаходом, включають метіоніл-hGH, який являє собою людський соматотропний гормон, що має додатковий залишок метіоніну на N-кінці. Додатковим варіантом, якому віддають перевагу, є людський соматотропний гормон без 15 амінокислотних залишків з Glu 32 по Glu 46.

"Варіант" людського соматотропного гормону за цим винаходом означає молекулу, яка є по суті подібною або цілому білку, або його фрагменту. Варіант може також називатись "мутеїном". Варіант може, наприклад, бути ізоформою hGH, наприклад, варіант, одержаний шляхом альтернативного розщеплення. Варіант, який являють собою (полі)пептиди, може також бути зручно одержаним шляхом прямого хімічного синтезу варіанта, який являє собою пептид, із застосуванням методів, добре відомих у цій галузі техніки. Звичайно, варіант, який являє собою людський соматотропний гормон, повинен мати активність щодо зв'язування з рецептором hGH та ініціювання передачі сигналу, принаймні подібну активності hGH і, завдяки

цьому, як очікується, анти-MSA активність, подібну активності hGH.

Варіанти амінокислотних послідовностей людського соматотропного гормону можна одержати шляхом мутацій дезоксирибонуклеїнових кислот, які кодують синтезовані похідні людського соматотропного гормону. Такі варіанти включають, наприклад, делеції, інсерції або заміни залишків у межах амінокислотної послідовності. Для одержання кінцевої генно-інженерної конструкції можна вдаватись до будь-якої комбінації делеції, інсерції і заміни, за умови, що кінцева генно-інженерна конструкція має бажану активність. Очевидно, що мутації, яким буде піддаватись ДНК, що кодує варіант, який являє собою пептид, не повинні змінювати рамки зчитування.

На генетичному рівні ці варіанти можна одержати сайтспрямованим мутагенезом (дивись Адельман (Adelman), 1983) нуклеотидів ДНК, що кодує молекулу пептиду, з одержанням, таким чином, ДНК, що кодує варіант і з подальшим експресуванням ДНК в культурі рекомбінантних клітин. Варіанти, як правило, демонструють біологічну активність, яка, у якісному відношенні, є принаймні такою самою, що і біологічна активність неваріантного пептиду.

"Аналог" людського соматотропного гормону за цим винаходом означає штучну молекулу, яка по суті є подібною або до цілої молекули, або до її активного фрагмента. Аналог людського соматотропного гормону, придатний за цим винаходом, повинен демонструвати анти-MSA активність.

Типи заміни, які можуть здійснюватись у людському соматотропному гормоні за цим винаходом, можуть базуватись на аналізі частот амінокислотних заміни між гомологічним білком різних видів. На основі результату такого аналізу, консервативні заміни можуть визначатись, як обміни у межах однієї з наведених нижче п'яти груп:

I. Невеликі аліфатичні неполярні або слабо полярні залишки: Ala, Ser, Thr, Pro, Gly.

II. Полярні негативно заряджені залишки та їхні аміді: Asp, Asn, Glu, Gln.

III. Полярні позитивно заряджені залишки: His, Arg, Lys.

IV. Великі аліфатичні неполярні залишки: Met, Leu, Ile, Val, Cys.

V. Великі ароматичні залишки: Phe, Trp, Tyr.

У межах наведених вище груп, наведені нижче заміщення вважаються "висококонсервативними":

Asp/Glu

His/Arg/Lys

Phe/Tyr/Trp

Met/Leu/Ile/Val

Напівконсервативні заміни визначаються як обміни між двома вищенаведеними групами (I)-(FV), які обмежуються супергрупою (A), що містить вищенаведені (I), (II) і (III), або супергрупою (B), що містить вищенаведені (IV) і (V). Заміни не обмежуються генетично закодованими або навіть природними амінокислотами. Після одержання антигенної детермінанти шляхом пептидного синтезу, бажана амінокислота може застосовуватись безпосередньо. За альтернативним варіантом, генетично закодована амінокислота може модифікуватись шляхом реагування її з органічним

дериватизатором, який є здатним до реагування з вибраними бічними ланцюгами або кінцевими залишками.

Залишки цистеїнілу найчастіше реагують з альфа-галогенацетатами (і відповідними амінами), наприклад, із хлороцтовою кислотою або хлорацетамідом, з одержанням карбоксилметильних або карбоксамідометильних похідних. Залишки цистеїнілу дериватизуються також шляхом реакції з бромтрифторацетоном, альфа-бромо-бета-(5-імідазоліл)пропіоноювою кислотою, хлорацетилфосфатом, N-алілмалеїмідами, 3-нітро-2-піридилдисульфідом, метил-2-піридилдисульфідом, p-хлормеркурібензоатом, 2-хлормеркурі-4-нітрофенолом або хлоро-7-нітробензо-2-окса-1,3-діазолом.

Залишки гістидилу дериватизуються шляхом реакції з діетилпрокарбонатом при pH 5,5-7,0, оскільки цей агент є відносно специфічним для бічного ланцюга гістидилу. Придатним є також парабромфенацилбромід; реакцію, за варіантом, якому віддають перевагу, здійснюють у 0,1M розчині какодилату натрію при pH 6,0.

Залишки лізинілу і амінокінцеві залишки реагують із бурштиновим або іншими ангітридами карбонової кислоти. Наслідком дериватизації за допомогою цих агентів є обернення заряду залишків лізинілу. До інших придатних реактивів для дериватизації залишків, що містять альфа-амінокислоти, належать складні імідоефіри, наприклад, метилпіколінімідат; піридоксальфосфат; піридоксаль; хлорборогідрид; тринітробензолсульфонова кислота; O-метилізосечовина; 2,4-пентандіон та трансаміназа-каталізована реакція з гліоксилатом.

Залишки аргінілу модифікуються шляхом реакції з одним або декількома традиційними реактивами, до яких належить фенілгліоксаль; 2,3-бутандіон та нінгідрин. Дериватизація залишків аргініну потребує проведення реакції за лужних умов із причини високого рКа функціональної групи гуанідину. Окрім того, ці реактиви можуть реагувати з групами лізину, а також з епсилон-аміногрупою аргініну.

Специфічна модифікація залишків тирозилу *per se* була піддана екстенсивному вивченню з особливим інтересом до введення спектральних міток до залишків тирозилу шляхом реагування з ароматичними сполуками діазонію або тетранітрометаном. Для одержання O-ацетилтирозилових різновидів та ε-нітропохідних найчастіше застосовують N-ацетилімідазол та тетранітрометан, відповідно.

Карбоксильні бічні групи (аспартил або глутаміл) вибірково модифікуються шляхом реакції з карбодіімідами (R'N-C-N-R'), наприклад, 1-циклогексил-3-[2-морфолініл-(4-етил)]карбодіімідом або 1-етил-3-(4-азоніа-4,4-диметилпентил)карбодіімідом. На додаток до цього, залишки аспартилу та глутамілу перетворюються на залишки аспарагінілу та глутамінілу шляхом реакції з іонами амонію.

Залишки глутамінілу та аспарагінілу часто дезамідують до відповідних залишків глутамілу та аспартилу. За альтернативним варіантом, ці залишки дезамідують за слабких кислих умов. Будь-

яка форма цих залишків входить до обсягу цього винаходу.

Приклади здійснення амінокислотних замінів у білках, які можуть застосовуватись для одержання аналогів hGH для застосування у цьому винаході, включають стадії будь-яких відомих методів, наприклад, наведені в патентах США №RE33,653; №4,959,314; №4,588,585 та №4,737,462 на ім'я Марк (Mark) та інших; №5,116,943 на ім'я Коте (Koths) та інших; №4,965,195 на ім'я Намен (Namen) та інших; та №5,017,691 на ім'я Лі (Lee) та інших, та лізин-заміщені білки, представлені в патенті США №4,904,584 (на ім'я Шоу (Shaw) та інших). Додаткові варіанти соматотропного гормону були описані, наприклад, у патенті США №6,143,523 (на ім'я Канінгхем (Cunningham) та інші).

Серед речовин, які зв'язуються з та ініціюють передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону, що можуть застосовуватись за цим винаходом, знаходяться усі аналоги та міметики соматотропного гормону, відомі за літературними джерелами, наприклад, розкриті у патентах США №5,851,992; №5,849,704; №5,849,700; №5,849,535; №5,843,453; №5,834,598; №5,688,666; №5,654,010; №5,635,604; №5,633,352; №5,597,709 та №5,534,617.

За варіантом, якому віддають перевагу, варіант або аналог hGH буде мати корову послідовність, яка є такою самою, що і послідовність нативного hGH або його біологічно активного фрагмента. Ця амінокислотна послідовність має щонайменше 70% ідентичність із нативною амінокислотою послідовністю і зберігає її біологічну активність. За варіантом, якому віддають більшу перевагу, така послідовність має щонайменше 80% ідентичність, щонайменше 90% ідентичність, а за варіантом, якому віддають найбільшу перевагу, щонайменше 95% ідентичність із нативною послідовністю.

"Ідентичність" відображає взаємозв'язок між двома або декількома поліпептидними послідовностями чи двома або декількома полінуклеотидними послідовностями, визначений шляхом порівняння послідовностей. Взагалі, ідентичність означає точну (нуклеотид до нуклеотиду або амінокислота до амінокислоти) відповідність двох полінуклеотидів або двох поліпептидних послідовностей, відповідно, по довжині послідовностей, що порівнюються.

Для послідовностей, що не мають точної відповідності, може визначатись "відсоток ідентичності". Взагалі, дві послідовності, що піддають порівнянню, впорядковано розміщують для одержання максимальної кореляції між послідовностями. Для підвищення ступеня впорядкованого розміщення, до однієї або обох послідовностей можуть включатись "розриви". Відсоток ідентичності може визначатись по усій довжині кожної з послідовностей, що піддаються порівнянню (так званий глобальний порівняльний аналіз первинної структури), що є особливо придатним для послідовностей однакової або дуже схожої довжини, або по коротшим відрізкам визначеної довжини (так званий локальний порівняльний аналіз первинної структури), що

є більш прийнятним для послідовностей різної довжини.

Способи порівняння ідентичності і гомології двох або декількох послідовностей є добре відомими у цій галузі. Так, наприклад, програми, доступні у пакеті програм Wisconsin Sequence Analysis Package, версія 9,1 (Деверо Дж. (Devereux J.) та інші, 1984), наприклад, програми BESTFIT та GAP, можуть застосовуватись для визначення відсотка ідентичності між двома полінуклеотидами та відсотка ідентичності і відсотка гомології між двома поліпептидними послідовностями. Програма BESTFIT застосовує алгоритм "локальної гомології" (Сміт (Smith) і Уотермен (Waterman), 1981) і знаходить одну найкращу ділянку подібності між двома послідовностями. У цій галузі відомі також інші програми для визначення ідентичності та/або подібності між послідовностями, наприклад, сімейство програм BLAST (Альтшуль С.Ф. (Altschul S.F.) та інші, 1990; Альтшуль С.Ф. (Altschul S.F.) та інші, 1997, доступне через домашню сторінку NCBI за адресою www.ncbi.nlm.nih.gov) і FASTA (Пірсон У.Р. (Pearson W.R.), 1990; Пірсон (Pearson), 1988).

Для варіантів або мутеїнів за цим винаходом перевагу віддають замінам, відомим під назвою "консервативних" замінів. Консервативні амінокислотні заміни соматотропних поліпептидів або білків можуть включати синонімічні амінокислоти у межах групи, подібність фізико-хімічних властивостей яких є достатньою для того, щоб заміна між членами групи зберегла біологічну функцію молекули (Грантем (Grantham), 1974). Зрозуміло, що у межах визначених вище послідовностей можуть здійснюватись також інсерції та делеції без зміни функції згаданих послідовностей, зокрема, якщо згадані інсерції або делеції залучають лише невелику кількість амінокислот, наприклад, до тридцяти, а за варіантом, якому віддають перевагу, до десяти, і не видаляють або не зміщують амінокислот, що є критичними для функціональної конфомації, наприклад, залишків цистеїну. Білки та мутеїни, одержані шляхом таких делецій та/або інсерцій, входять до сфери дії цього винаходу.

Аналоги або варіанти за цим винаходом можуть також визначатись за наведеною нижче методикою. ДНК нативної послідовності є відомою у цій галузі і наведена у літературі (Мартіал (Martial) та інші, 1979). Поліпептиди, закодовані будь-якою нуклеїновою кислотою, наприклад, ДНК або РНК, що гібридизується з комплементом нативної ДНК або РНК за умов високої жорсткості або за помірно жорстких умов доти, доки цей поліпептид зберігає біологічну активність нативної послідовності, також вважаються такими, що входять до обсягу цього винаходу.

Умови жорсткості є функцією температури, що застосовується у гібридаційному експерименті, молярності моновалентних катіонів і відсотка формаміду у гібридаційному розчині. Для визначення ступеня жорсткості, яким характеризується будь-який даний набір умов, спочатку застосовують рівняння Мейнкота (Meinkoth) та інших (1984) для визначення стабільності гібридів 100% ідентичності, вираженої у вигляді температури плавлення T_m ДНК-ДНК гібриду:

$$T_m = 81,5^\circ\text{C} + 16,6(\log M) + 0,41(\%GC) - 0,61(\%form.) - 500/L$$

де M - молярність моновалентних катіонів, $\%GC$ - відсоток G та C нуклеотидів у ДНК, $\%form.$ - відсоток формаміду у гібридаційному розчині, а L - довжина гібриду у парах нуклеотидів. На кожен 1°C зниження T_m від обчисленої для гібриду 100% ідентичності, дозволений рівень помилкового парування підвищується приблизно на 1%. Таким чином, якщо T_m застосована для будь-якого даного гібридаційного експерименту при зазначених концентраціях солі та формаміду, є на 10°C нижчою за T_m , обчислену для 100% гібриду за рівнянням Мейнкота, гібридизація відбудеться навіть у разі до приблизно 10% помилкового парування.

Умовами високої жорсткості, за цим винаходом, є умови, що допускають не більше за приблизно 15% розходження послідовностей, у той час як помірно жорсткими умовами є умови, що допускають не більше за приблизно 20% розходження послідовностей. Без обмеження, у прикладах з умовами високої жорсткості ($12-15^\circ\text{C}$ нижче обчисленої T_m гібриду) та з помірно жорсткими умовами ($15-20^\circ\text{C}$ нижче обчисленої T_m гібриду) застосовують промивний розчин $2\times\text{SSC}$ (стандартний цитратний фізіологічний розчин) та 0,5% SDS (додецилсульфат натрію) при відповідній температурі нижче обчисленої T_m гібриду. Гранична жорсткість умов обумовлюється, головним чином, умовами промивання, зокрема, якщо застосовуються умови гібридизації, що надають можливість утворення менш стабільних гібридів разом зі стабільними гібридами. У такому разі, під час промивання за умов підвищеної жорсткості менш стабільні гібриди видаляються. Звичайними умовами гібридизації, що можуть застосовуватись за умов промивання у межах від високої до помірно жорсткості, опис яких наведено вище, є гібридизація у розчині $6\times\text{SSC}$ (або $6\times\text{SSPE}$ ($\text{NaCl} + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{етилендіамінтетраоцтов а кислота}$)), $5\times$ розчин Денгардта, 0,5% SDS, 100мкг/мл денатурованої, фрагментованої ДНК молочка лососевих при температурі приблизно на $20^\circ\text{C}-25^\circ\text{C}$ нижче T_m . У разі застосування змішаних зразків, перевагу віддають застосуванню тетраметиламонійхлориду (TMAC) замість SSC (Осбел (Ausubel), 1987-1998).

Незважаючи на те, що цей винахід пропонує рекомбінантні методи одержання похідних людського соматотропного гормону, ці похідні можна також одержувати традиційними методами синтезу білків, які є добре відомими фахівцям у цій галузі.

Людський соматотропний гормон або фрагменти, варіанти, аналоги, функціональні похідні чи їхні солі можуть бути введені у різних дозах.

За варіантом, якому віддають перевагу, соматотропний гормон вводять у дозі від приблизно 0,1мг до 10мг на особу на добу або від приблизно 0,5мг до 6мг на особу на добу.

За додатковим варіантом, якому віддають перевагу, соматотропний гормон вводять у дозі приблизно 1мг на особу на добу.

За ще одним додатковим варіантом, якому віддають перевагу, соматотропний гормон вводять щоденно або через день.

Соматотропний гормон за цим винаходом може також вводиться змінними добовими дозами, де перша доза є більшою за другу дозу. За варіантом, якому віддають перевагу, перша доза становить приблизно 1мг на особу, а друга доза становить приблизно 0,5мг на особу.

За іншим варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, тижнева доза соматотропного гормону становить приблизно 6мг на особу або приблизно 5мг на особу чи приблизно 4,5мг на особу.

Лікування соматотропним гормоном за цим винаходом може здійснюватись або шляхом введення екзогенного соматотропного гормону, або шляхом введення речовини, що стимулює продукування ендогенного соматотропного гормону безпосередньо або опосередковано шляхом пригнічення секретування ендогенного соматостатину.

Таким чином, за додатковим варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, речовину, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовину, що стимулює виділення або потенціює активність ендогенного hGH, що застосовується для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема MSA, вибирають з групи, що включає:

а) людський соматотропінвивільнювальний гормон (hGHRH);

б) фрагмент (а), який виявляє агоністичну активність на рецептор hGHRH;

с) варіант (а) або (б), який має щонайменше 70% ідентичність послідовності з (а) або (б) і який виявляє агоністичну активність на рецептор hGHRH;

д) варіант (а) або (б), який кодується послідовністю ДНК, яка гібридується з комплементом послідовності нативної ДНК, що кодує (а) або (б) за умов помірної жорсткості, і який агоністичну активність на рецептор hGHRH; або

е) сіль або функціональну похідну (а), (б), (с) або (д), яка виявляє агоністичну активність на рецептор hGHRH.

Відомо, що людський соматотропінвивільнювальний гормон (hGHRH) стимулює вивільнення hGH. Таким чином, біологічну активність hGH можна опосередковано викликати шляхом введення GHRH або його функціональної похідної, солі, варіанта, аналогу або фрагмента, що зберігає біологічну активність GHRH, тобто здатність до стимулювання вивільнення соматотропіну. Так, наприклад, окрім GHRH можуть бути застосовані його функціональні похідні відповідно до вищеведеного визначення, його аналоги або варіанти, що мають щонайменше 70% ідентичність послідовності, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, 80% або 90%, за варіантом, якому віддають найбільшу перевагу, 95% ідентичність послідовності, однак зберігають біологічну активність GHRH, або варіант чи аналог, який являє собою поліпептид, закодований ДНК, що гібридується з нативною ДНК, що кодує GHRH за помірно жорстких

умов або, за варіантом, якому віддають перевагу, за умов високої жорсткості, що відповідає визначенням, наведеним вище.

За варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, функціональні похідні hGH або GHRH чи будь-який його активний фрагмент, варіант або аналог, містить щонайменше одну складову, зв'язану з однією або декількома функціональними групами, які існують у вигляді одного або декількох бічних ланцюгів на амінокислотних залишках. Перевагу віддають приєднанню поліетиленгліколю (PEG). Молекули поліетиленгліколізованого GHRH (який називають також GRF), яким віддають перевагу і які можуть застосовуватись за цим винаходом, були описані, наприклад, у WO 99/27897. Речовини за цим винаходом можуть також алкілуватись для подовження періоду напіввиведення з людського тіла.

Особливу перевагу за цим винаходом віддають композиціям пролонгованої дії, наприклад, композиціям, період напіввиведення (T_H) активної речовини яких перевищує 30год.

За цим винаходом можуть застосовуватись будь-який GHRH або будь-які аналоги чи агоністи GHRH, відомі у літературі та розкриті як такі, що стимулюють вивільнення соматотропіну, наприклад, розкриті в патентах США №5,792,747; №5,776,901; №5,696,089; №5,137,872; №5,767,085; №5,612,470; №5,846,936; і №5,847,066. Дивись також Торнер (Thorner) та інші (1997), Фелікс (Felix) та інші (1995), Альба-Рот (Alba-Roth) та інші (1988), Френд (Friend) та інші (1997).

До інших речовин, здатних стимулювати вивільнення соматотропіну *in vivo*, які можуть застосовуватись за цим винаходом, належать речовини, розкриті у патентах США №5,807,985; №5,804,578; №5,795,957; №5,777,112; №5,767,118; №5,731,317; №5,726,319; №5,726,307; №5,721,251; №5,721,250 тощо.

Будь-яка інша молекула, що зв'язується з рецептором hGH і ініціює передачу сигналу цим рецептором, може також застосовуватись за цим винаходом. Відомо, наприклад, що були розроблені невеликі молекули, які подеколи називають секретогогами, які зв'язуються з рецепторами hGH і примушують їх до агрегування та ініціюють передачу сигналів, де згадана ініціація передачі сигналів є такою самою, що і одержувана у разі зв'язування з рецептором природного hGH. Такі молекули відомі, наприклад, із патентів США №5,773,441; №5,798,337; №5,830,433; №5,767,124; і №5,723,616. Дивись також Боуерс (Bowers) та інші (1991), Томер (Thomer) та інші (1997), Каманні (Camanni) та інші (1998), Сміт (Smith) та інші (1993) і Гіро (Ghigo) та інші (1998).

Таким чином, цей винахід включає будь-яку речовину, що зв'язується з рецептором hGH і ініціює передачу сигналів цим рецептором з одержанням такого самого кінцевого якісного ефекту, що і у разі введення природного hGH тією мірою, до якої це має відношення до лікування групи синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, зокрема MSA.

У цій галузі техніки добре відомо, що інсуліно-подібні фактори росту (IGFs) належать до системи

передачі сигналу соматотропного гормону. Досі були описані два інсуліноподібні фактори росту, які мають назву IGF-I та IGF-II. IGF-I опосередковує більшість рістстимулювальних дій GH. IGF-I, сильнодіючий мітогенний соматотропний гормон, має вражаючу гомологію з проінсуліном. Він зв'язується зі специфічними рецепторами, які також зв'язують інсулін із нижчою спорідненістю. Переважною ділянкою GH-стимульованого продукування IGF-I є печінка, у той час як деякі позапечінкові тканини також синтезують IGF-I. IGF-I регулює експресію і секрецію гена GH шляхом негативного зворотного зв'язку, аналогічно до пригнічення гормонів надниркової та щитоподібної залоз відповідними тропними гормонами гіпофізу.

Таким чином, цей винахід має додаткове відношення до застосування IGF (інсуліноподібного фактора росту) для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема множинної системної атрофії. За варіантом, якому віддають перевагу, інсуліноподібний фактор росту вибирають з посеред IGF-I або IGF-II.

Відомо також, що інсуліноподібні фактори росту утворюють комплекси зі специфічними зв'язувальними білками, які мають назву зв'язувальних білків інсуліноподібного фактора росту (IGFBPs). Припускають, що ці зв'язувальні білки здійснюють чотири функції, у тому числі транспортування інсуліноподібних факторів росту у судинній сітці та через інтактні мембрани капілярів, перенесення інсуліноподібних факторів росту до специфічних тканин і типів клітин, контролювання взаємодії IGF із поверхневими рецепторами клітин та модулювання біологічних дій інсуліноподібних факторів росту (Клеммонс (Clemmons) та інші, 1993). Зокрема, зв'язувальний білок-3 інсуліноподібного фактора росту (IGFBP-3) є головним визначальним фактором циркулюючих рівнів інсуліноподібних факторів росту і є клінічно придатним для визначення дефіциту GH і для прогнозування реакції на лікування GH.

Таким чином, за варіантом здійснення цього винаходу, якому віддають перевагу, лікарський засіб додатково містить IGFBP. За варіантом, якому віддають перевагу, IGFBP являє собою IGFBP3.

Комбінації IGF-I, IGF-II, IGFBP із людським соматотропним гормоном або GHRH чи з будь-якими їхніми фрагментами, варіантами, функціональними похідними або солями, для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема MSA, додатково входять до обсягу цього винаходу. Згадані речовини можуть застосовуватись послідовно, окремо або одночасно.

Цей винахід додатково має відношення до застосування молекули нуклеїнової кислоти, що містить кодувальну послідовність речовини, що зв'язується з рецептором людського соматотропного гормону (hGH) та ініціює передачу ним сигналу, або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH, для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема, множинної системної атрофії.

Молекула нуклеїнової кислоти може додатково містити послідовність вектора експресії, наприклад, для застосування генної терапії для введення hGH за цим винаходом.

За варіантом, якому віддають перевагу, лікарський засіб за цим винаходом вводять підшкірно.

Перевагу також віддають введенню цього лікарського засобу внутрішньом'язово.

За ще іншим варіантом, якому віддають перевагу, речовину вводять за допомогою автоматичного ін'єктора. Автоматичні ін'єктори являють собою пристрої, що полегшують підшкірне введення лікарських засобів. Автоматичні ін'єктори є відомими у цій галузі, наприклад, один із них, який називають Easyject®, який є особливо придатним для введення hGH. За цим винаходом може застосовуватись також безгольове введення із застосуванням спеціальних пристроїв, відомих у цій галузі.

Цей винахід додатково має відношення до застосування вектора для індукування та/або підсилення ендogenous продукування речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH, для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема, множинної системної атрофії.

Згаданий вектор може містити регуляторні елементи, що функціонують у клітинах, які повинні експресувати речовину за цим винаходом. Такі регуляторні послідовності або елементи можуть бути, наприклад, промоторами або енхансерами. Згадана регуляторна послідовність може вводитись до відповідного локусу геному шляхом гомологічної рекомбінації, що забезпечує функціональне зв'язування згаданої регуляторної послідовності з геном, експресія якого повинна бути індукована або посилена. Цю методику, як правило, називають "активацією ендogenous гена" (EGA) і її опис наведено, наприклад, у WO 91/09955.

Цей винахід додатково має відношення до застосування клітини, яка була піддана генетичному модифікуванню з одержанням речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH, для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема, множинної системної атрофії.

Цей винахід додатково стосується способу лікування синдрому "паркінсонізм-плюс", зокрема, множинної системної атрофії, який включає введення хворому, який цього потребує, ефективної кількості речовини, що зв'язується з та ініціює передачу сигналу рецептором людського соматотропного гормону (hGH), або речовини, що стимулює виділення або потенціює активність ендogenous hGH.

До складу фармацевтичних композицій для введення за цим винаходом може входити щонайменше один людський соматотропний гормон за цим винаходом у фармацевтично прийнятній

формі, за факультативним варіантом, у поєднанні з фармацевтично прийнятним носієм, розріджувачем, стабілізатором або допоміжною речовиною.

Ці композиції можуть вводитись будь-якими способами, що забезпечують досягнення бажаної мети. Кількості та схеми введення композиції за цим винаходом можуть легко визначатись пересічними фахівцями у цій галузі техніки для лікування групи синдромів, що додаються до хвороби Паркінсона, зокрема, MSA.

До композицій, що входять до обсягу цього винаходу, входять усі композиції, що містять щонайменше один людський соматотропний гормон або його похідну, аналог чи варіант за цим винаходом, у кількості, ефективній для досягнення бажаної мети. Незважаючи на різницю індивідуальних потреб, визначення оптимальних діапазонів ефективних кількостей кожного компоненту знаходиться у межах можливостей цієї галузі техніки. Типові дози становлять від приблизно 0,001 мг на кг маси тіла на добу до приблизно 0,1 мг на кг маси тіла на добу. У разі введення хворим, що страждають на MSA, лікування MSA за допомогою hGH може здійснюватись одночасно з іншими видами лікування, які можуть бути показані при цьому захворюванні.

За варіантом, якому віддають перевагу, добова доза введення hGH становить від приблизно 0,1 мг до 10 мг або від приблизно 0,5 мг до 6 мг. За додатковим варіантом, якому віддають перевагу, доза може дорівнювати приблизно 1 мг людського соматотропного гормону на особу на добу.

За додатковим варіантом, якому віддають перевагу, hGH вводять змінними дозами, причому перша доза є більшою, ніж друга. За варіантом, якому віддають перевагу, перша доза становить приблизно 1 мг, а друга доза становить приблизно 0,5 мг. Тижнева доза за варіантом, якому віддають перевагу, становить приблизно 6 мг або приблизно 5 мг чи 4,5 мг, у залежності від потреб хворого.

Введення може здійснюватись, наприклад, парентеральним шляхом, наприклад, підшкірним, внутрішньовенним, внутрішньом'язовим, пероральним, внутрішньоочеревинним, аерозольним, черезшкірним, внутрішньооболонковим або ректальним шляхами. Введена доза залежить від віку, стану здоров'я, маси реципієнта, типу попереднього або одночасного лікування, у разі його проведення, частоти лікування і природи бажаного ефекту.

За цим винаходом, шляхами введення, яким відають перевагу, є підшкірний та внутрішньом'язовий шляхи. Шляхом введення, якому віддають особливу перевагу, є пероральний шлях.

Слід розуміти також, що надаване лікування, щоб бути корисним, не повинно бути абсолютним, за умови, що воно є достатнім для забезпечення клінічного значення. Засіб, який забезпечує менш ефективне лікування, ніж конкурентні засоби, може все ж таки становити цінність, якщо інші засоби є неефективними для конкретного індивіду, якщо цей засіб може застосовуватись у комбінації з іншими засобами для підвищення загального рівня захисту або якщо цей засіб є безпечнішим, ніж конкурентні засоби.

Слід розуміти, що прийнятна доза композиції за цим винаходом буде залежати від віку, стану здоров'я, маси реципієнта, типу одночасного лікування, у разі його проведення, частоти лікування і природи бажаного ефекту. Однак доза, якій віддають найбільшу перевагу, може підбиратись для конкретного суб'єкта, як розуміється і визначається фахівцем у цій галузі, без зайвого експериментування. Це, як правило, потребує регулювання стандартної дози, наприклад зменшення дози, якщо хворий має невелику масу.

Загальна доза, необхідна для кожного лікування, може вводитись множинними дозами або разовою дозою. Композиції можуть бути введені самостійно або у поєднанні з іншими лікарськими засобами, спрямованими проти цього захворювання або спрямованими проти інших його симптомів.

На додаток до сполук за цим винаходом, фармацевтична композиція може містити відповідні фармацевтично прийнятні носії, наприклад, наповнювачі, носії та/або допоміжні речовини, які полегшують включення активних сполук до препаратів, які можуть знайти фармацевтичне застосування.

Після наведення повного опису цього винаходу, фахівцям у цій галузі буде зрозуміло, що те саме можна здійснити у широкому діапазоні еквівалентних параметрів, концентрацій та умов без відхилення від суті та обсягу винаходу та без зайвого експериментування.

Незважаючи на те, що цей винахід було описано у зв'язку з його специфічними варіантами здійснення, слід розуміти, що він є придатним для додаткових модифікацій. Цей опис включає будь-які варіанти, способи застосування або адаптації цього винаходу, що відповідають, у цілому, принципам цього винаходу, і включає такі відхилення від наведеного опису, які відповідають відомій або традиційній практиці у межах тієї галузі, до якої належить цей винахід і тією мірою, до якої це може бути віднесено до наведених вище суттєвих особливостей, що входять до обсягу формули винаходу, що додається.

Усі посилання, наведені у цьому описі, у тому числі журнальні статті або реферати, опубліковані або неопубліковані заявки на патенти США або заявки на зарубіжні патенти, опубліковані патенти США або зарубіжні патенти чи будь-які інші посилання, у повному обсязі включаються до цього опису шляхом посилання, у тому числі усі дані, таблиці, фігури і текст, наведені у згаданих посиланнях. На додаток до цього, посилання, згадані у посиланнях, наведених у цьому описі, також у повному обсязі включаються до цього опису шляхом посилання.

Посилання на стадії відомих способів, стадії традиційних способів, відомі способи або традиційні способи жодною мірою не є визнанням того, що будь-який аспект, опис або варіант здійснення цього винаходу розкривається, описується або пропонується у відповідній галузі.

Наведений далі опис конкретних варіантів здійснення з такою повнотою розкриє загальну природу цього винаходу, що інші зможуть, застосовуючи знання у межах цієї галузі (з включенням обсягу наведених у цьому описі посилань), легко

модифікувати та/або адаптувати для різних варіантів застосування такі конкретні варіанти здійснення без зайвого експериментування і без відхилення від загальної концепції цього винаходу. Вважається, таким чином, що такі адаптації та модифікації входять до діапазону еквівалентів розкритих варіантів здійснення, виходячи з розкриття та вказівок, наведених у цьому описі. Слід розуміти, що фразеологія або термінологія цього опису призначена для опису, а не для обмеження, унаслідок чого термінологія або фразеологія на-

веденого опису повинна тлумачитися досвідченим фахівцем у світлі наведеного опису та вказівок у поєднанні зі знаннями пересічного фахівця у цій галузі.

Після завершення опису винаходу, він буде легшим для розуміння завдяки посиланню на наведений нижче у загальних рисах приклад клінічного випробування, який наведено лише з ілюстративною метою і який не призначається для обмеження цього винаходу.

Приклад

Перелік скорочень

AE	негативне явище
AST	аспартат-аміотрансфераза
ALT	аланін-аміотрансфераза
CNS (ЦНС)	центральна нервова система
CPMP	Комітет із запатентованих лікарських форм
CRA	особа, що здійснює клінічне дослідження
CRF	бланк історії хвороби
CSF	цереброспінальна рідина
DER	бланк реєстрації застосування лікарського засобу
FDA	Управління з санітарного нагляду за харчовими продуктами і медикаментами (США)
GCP	доброякісна клінічна практика
GFAP	гліальний фібрилярний кислий білок
GH	соматотропін
GHD	дефіцит соматотропіну
GLP	доброякісна лабораторна практика
hCG	людський хоріонічний гонадотропін
5-HIAA	5-гідроксиіндолоцтова кислота
HVA	гомованілінова кислота
ICH	міжнародна конференція з гармонізації
IEC	незалежний комітет з етики
IGF-1	інсуліноподібний фактор росту I
IGFBP-3	зв'язувальний білок інсуліноподібного фактора росту 3
IRB	Інституційна оглядова рада
IU (МОд)	міжнародна одиниця
IV	внутрішньовенно
L-DOPA	препарат леводопа
LTP	пролонговане потенціювання
мг	міліграм
MRA	помічник дослідника (при проведенні медичних досліджень)
MSA	множинна системна атрофія
NFL	білок нейрофіламенту
NHP	Нотінгемський паспорт здоров'я
PLM	постурально-локомоторно-мануальний тест
r-hGH	рекомбінантний людський соматотропний гормон
RNA	рибонуклеїнова кислота
SAE	серйозне негативне явище
TD	керівник-терапевт
TPN	повне парентеральне живлення
UPDRS	уніфікована шкала оцінок хвороби Паркінсона
WHO	Всесвітня організація здоров'я

Короткий огляд дослідження

Назва: одноцентрове, подвійне сліпе, рандомізоване, плацебо-контрольоване дослідження підшкірно введеного рекомбінантного людського соматотропного гормону (r-hGH) при лікуванні множинної системної атрофії (MSA), Стадія II.

Стадія проекту: стадія II.

Показання: множинна системна атрофія.

Головні цілі:

1) Лабораторні: Визначити ефект лікування із застосуванням r-hGH шляхом аналізу маркерів нейродегенерації гліального фібрилярного кислого білка (GFAP) та білка нейрофіламентів (NFL) у цереброспінальній рідині (Холмберг (Holmberg) та інші, 1998).

2) Клінічні:

(а) Стабілізація функціональних показників, визначених за Уніфікованою шкалою оцінок хвороби Паркінсона (UPDRS) (дивись нижче), порівняно з плацебо-групою.

(b) Стабілізація за результатами тестування вегетативної нервової системи, порівняно з плацебо-групою.

Другорядні цілі:

(а) Оцінити безпечність та стерпність r-hGH хворими цієї групи.

(b) Визначити будь-яку різницю між групами щодо прогресування захворювання із застосуванням постурально-локомоторно-мануального тесту (PLM).

(c) Поліпшення якості життя з визначенням за допомогою Нотінгемського паспорту здоров'я (NHP) (дивись нижче).

Кількісний склад групи: 40 хворих, що піддаються оцінці.

Експериментальний лікарський засіб: Saizen® [рекомбінантний людський соматотропний гормон (r-hGH)].

Схема лікування: 1мг тричі на тиждень впродовж 12 місяців (з можливим підвищенням дози через 6 місяців для почергового добового введення 1мг та 0,5мг, якщо стан хворого значно погіршується).

Шлях введення: підшкірний.

Процедури: Пацієнти повинні будуть задовольняти критеріям щодо клінічно ймовірного діагнозу MSA перед включенням до експериментальної групи. Відбудеться 6 візитів до лікаря, буде проведено переддослідне обстеження, буде експериментальний день 1, місяць 3, місяць 6, місяць 9 і місяць 12. Аналізи цереброспінальної рідини на GFAP та NFL будуть проведені під час переддослідного обстеження, на 6 місяці і 12 місяці. У експериментальний день 1, на 6 місяці і 12 місяці хворим запропонують заповнити формуляр NHP, їх функціональний стан визначать за допомогою UPDRS і проведуть тестування вегетативної нервової системи.

Дані щодо безпечності та ефективності будуть одержані під час звичайного подальшого лікарського спостереження та вивчення віддалених результатів, за допомогою звичайних гематологічних аналізів, клінічних біохімічних аналізів та аналізу сечі, окрім специфічних процедур, що згадуються нижче.

Цілі

Цілі дослідження:

Головні цілі:

Лабораторні: Визначити ефект лікування із застосуванням r-hGH шляхом аналізу GFAP та NFL (маркерів нейродегенерації) у цереброспінальній рідині (Холмберг (Holmberg) та інші, 1998), тобто стабілізацію GFAP та NFL у хворих, що одержують r-hGH та підвищення рівня цих маркерів, як ознаку продовження розкладу, у плацебо-групі.

Клінічні:

- Стабілізація функціональних показників, визначених за Уніфікованою шкалою оцінок хвороби Паркінсона (Додаток F), порівняно з плацебо-групою.

- Стабілізація за результатами тестування вегетативної нервової системи, порівняно з плацебо-групою (Додаток I).

Другорядні цілі:

- Оцінити безпечність та стерпність r-hGH хворими цієї групи.

- Визначити будь-яку різницю між групами щодо прогресування захворювання із застосуванням постурально-локомоторно-мануального тесту (PLM) (дивись нижче).

- Поліпшення якості життя з визначенням за допомогою Нотінгемського паспорту здоров'я (NHP) (дивись нижче).

Кількісний склад групи:

До експерименту буде включено 40 хворих. Кожен хворий повинен:

- Задовольняти усім критеріям включення та виключення, наведеним у подальших розділах, у межах визначеного періоду часу.

- Одержати призначений курс лікування та виконати необхідні дії, визначені у протоколі, та

- Мати заповнений бланк історії хвороби (CRF), одержати усі формуляри і відповісти на усі запитання за стандартом, визначеним Спонсором.

Критерії включення

Щоб виявитись придатним для включення до цього експерименту, кожен хворий за 28 днів до експериментального дня 1 повинен задовольняти наведеним нижче критеріям:

1) Відповідати критеріям щодо клінічно ймовірного діагнозу MSA (нижче).

2) Мати передбачувану тривалість життя щонайменше один рік.

3) Бути віком від 30 до 75 років.

4) Мати бажання та здатність виконання вимог протоколу впродовж дослідження.

5) Надати письмову згоду на основі одержаної інформації перед будь-якою пов'язаною з дослідженням процедурою, що не є складовою частиною звичайного медичного обслуговування хворого. Слід враховувати те, що хворий може анулювати згоду у будь-який момент без виникнення перешкод для отримання майбутнього медичного обслуговування.

6) Хворі-жінки повинні:

(а) Знаходитись у постклімактеричному періоді або бути хірургічно стерилізованими, або

(b) Застосовувати гормональний контрацептив, внутрішньоматковий засіб, діафрагму із сперміцидом або презерватив із сперміцидом під час проведення досліджень, та

(c) Не мати вагітності і не годувати груддю.

Підтвердженням того, що хвора-жінка не є вагітною, повинен бути негативний результат проби на наявність вагітності (сироватковий/сечовий людський хоріонічний гонадотропін) впродовж 28-денного відбіркового періоду перед експериментальним днем 1. Проведення проби на наявність вагітності не є обов'язковим у разі, якщо хвора знаходиться у постклімактеричному періоді або є хірургічно стерилізованою.

Критерії виключення

Хворі, що задовольняють будь-якому з наведених нижче критеріїв, будуть виключені з дослідження:

1) Клінічні ознаки одночасного інфекційного або запального захворювання у крові або цереброспінальній рідині.

2) Рівні сироваткового креатиніну, AST або ALT $\geq 2,5 \times$ вищого значення нормального діапазону (дані не пізніші 1 місяця до експериментального дня 1).

3) Наявність або анамнез цукрового діабету (тип I або тип II).

4) Наявність або анамнез будь-якої активної злоякісної пухлини.

5) Гіпотиреоз (без адекватного замісного лікування гормоном щитоподібної залози).

6) Доброякісна внутрішньочерепна гіпертензія.

7) Попередній анамнез синдрому каналу зап'ястя без хірургічного втручання.

8) Неприйнятними є хворі, що належать до групи ризику з приводу системного захворювання, незлоякісного захворювання органа або значних вторинних ефектів раку. Неприйнятними є хворі із клінічно суттєвим серцево-судинним захворюванням (тобто наявність визначених серцево-судинних симптомів з явно вираженими обмеженнями та необхідністю додаткового відпочинку з приводу контрольних симптомів).

9) Неприйнятними є хворі, що одержували інший експериментальний лікарський засіб або брали участь у будь-якій експериментальній процедурі у межах 3-місячного періоду перед участю в цьому дослідженні.

10) Попередня алергія на r-hGH.

11) Попереднє лікування r-hGH.

Призначення хворим номерів та розподіл на експериментальні групи

У дослідженні будуть приймати участь 40 хворих. У разі зарахування, вони будуть довільно розподілені для одержання підшкірних ін'єкцій SAIZEN® або у плацебо (1мг) подвійним сліпим чином впродовж 12 місяців (із можливим підвищенням дози через 6 місяців для почергового добового введення 1мг та 0,5мг, якщо стан хворого значно погіршується). Лікування, призначене кожному хворому, буде визначатись за довільним комп'ютерним переліком. Упаковки, що містять лікарський засіб у одноразових дозах та ампули, що знаходяться у цих упаковках, будуть помічатись особливим ідентифікаційним номером хворого.

У разі, якщо хворого визнано придатним для дослідження, і виконані усі переддослідні процедури, йому/їй буде призначено особливий ідентифікаційний номер у послідовному хронологічному порядку після завершення усіх визначень та оцінок впродовж Експериментального дня 1. Перед призначенням номера усі хворі повинні бути ідентифіковані за їх ініціалами та датою народження. У разі, якщо хворого після довільного розподілу виключають із дослідження, його/її ідентифікаційний номер повторно нікому не призначають.

Експериментальні лікарські засоби

Презентація, одержання, зберігання і мічення

Експериментальний лікарський засіб (Saizen® або плацебо) буде постачатись фірмою Serono у формі багатодозового препарату у скляних ампулах, що містять 24МОд (8,8мг) r-hGH плюс наповнювачі (цукроза, 85% розчин фосфорної кислоти

та фосфорна кислота, розбавлена 85% розчином фосфорної кислоти або гідроксидом натрію), або відповідні скляні ампули з плацебо, що містять лише наповнювачі. Розчин для відновлення буде постачатись у капсулах, що містять 0,3% розчин метакрезолу (у відношенні маси до об'єму) у воді для ін'єкцій.

Одна ампула експериментального лікарського засобу буде відновлюватись 1,51мл розріджувача. У цьому дослідженні буде використовуватись автоматичний ін'єктор Easyject®, який хворі будуть одержувати разом із набором для відновлення та голками.

Ліофілізований продукт повинен зберігатись при температурі 25°C або нижче у захищеному від світла місці. Усі експериментальні лікарські засоби повинні зберігатись у безпечному місці, можливо, у закритому на замок холодильнику з регулюванням температури або прохолодній кімнаті. Експериментальні лікарські засоби можуть роздаватись лише дослідником, фармакологом або членом робочої бригади, який відповідним чином одержує спеціальне уповноваження від дослідника. Про будь-які відхилення від рекомендованих умов зберігання слід негайно інформувати Спонсора, і застосування експериментальних лікарських засобів повинно бути негайно припинене до одержання дозволу з боку Спонсора на продовження його застосування.

Після відновлення за допомогою бактеріостатичного розріджувача, лікарський засіб повинен зберігатись при температурі у межах від 2°C до 8°C (36°F-46°F) і застосовуватись для ін'єкцій впродовж 21 дня.

Мічення і пакування буде здійснюватись у відповідності до місцевих законодавчих вимог.

Доза, шлях та схема введення експериментального лікарського засобу

Кожен хворий буде одержувати підшкірну ін'єкцію, за варіантом, якому віддають перевагу, перед відходом до сну, тричі на тиждень (за варіантом, якому віддають перевагу, у понеділок, середу та п'ятницю) у дозі 1мг впродовж 12 місяців. Однак, якщо під час візиту на 6 місяці у хворого буде виявлено значне погіршення будь-яких із наведених нижче клінічних симптомів або результатів обстеження, доза буде підвищена для почергових добових ін'єкцій 1мг та 0,5мг.

- Погіршення дизартрії, дисфагії, парезу, координації, ригідності, рівноваги, спроможності ходіння, нетримання сечі або статевої функції.

- Підвищення рівнів NFL у цереброспінальній рідині.

- Додаткове погіршення результатів тестів серцево-судинних рефлексів.

Місця ін'єкцій повинні по черзі вибиратись на животі, руках і ногах. За рішенням дослідника, ін'єкції можна навчити робити самого хворого або члена/партнера родини.

Хворого будуть прохати реєструвати час ін'єкції, введену кількість та будь-які місцеві або системні негативні явища у реєстраційній картці.

Одночасне лікування

Застосування антикоагулянтів (за винятком аспірину) під час дослідження не дозволяється.

З наведеними винятками, будь-які лікарські засоби, що вважаються необхідними для благопо-

луччя хворого і які не будуть перешкоджати дії експериментального лікарського препарату, можуть застосовуватись за рішенням дослідника. Введення усіх лікарських засобів, які застосовуються одночасно, повинно реєструватись у відповідному розділі CRF із вказанням дози, шляху, дат введення та причин застосування. На додаток до цього, у відповідному розділі CRF повинні бути зареєстровані будь-які незаплановані діагностичні, терапевтичні або хірургічні процедури, проведені під час експериментального періоду, у тому числі дата, показання до проведення і опис процедур та їхні результати.

Застосування будь-яких гомеопатичних/натуральних продуктів або інших "народних ліків", вітамінів, харчових добавок та усіх інших супровідних лікарських засобів повинно реєструватись у історії хвороби таким самим чином, що і застосування традиційних лікарських засобів.

Оскільки це дослідження здійснюється на амбулаторних хворих, їм буде запропоновано щоденно реєструвати будь-які заходи, пов'язані із самолікуванням.

Згода на основі одержаної інформації

Кожен з потенційно обраних хворих буде проінформований щодо цілей дослідження та загальних вимог. Перед проведенням будь-яких попередніх тестів, які не входять до звичайного курсу лікування хворого, дослідник пояснить хворому хід дослідження у повному обсязі із застосуванням Інформаційної листівки для хворого/Бланка згоди на основі одержаної інформації. Якщо хворий виявить бажання приймати участь у дослідженні, від нього потребують письмової згоди на основі одержаної інформації після того, як хворий впродовж достатнього часу обміркує можливість своєї участі та можливість одержання додаткової інформації. Бланк згоди на основі одержаної інформації буде підписаний і особисто датований як самим хворим, так і дослідником/помічником дослідника. Пацієнт одержить копію підписаного бланка, а оригінал буде зберігатись з основними документами. Роз'ясненням експерименту буде займатись середній медичний персонал, однак дослідник/помічник дослідника повинен брати участь у обговореннях із хворим і повинен підписати і особисто датувати бланк згоди на основі одержаної інформації.

Скорочений бланк історії хвороби буде заповнено на усіх хворих, які підпишуть бланк згоди на основі одержаної інформації, але які у подальшому участі у дослідженні приймати не будуть. Ці хворі будуть позначені їхніми ініціалами та датами народження; окрім того, буде зареєстрована їх походження, стать і причини виключення з дослідження.

Експертиза перед початком дослідження

У межах 28 днів до експериментального дня 1 (день першої ін'єкції r-hGH) хворі повинні пройти експертизу для прийняття рішення про їхню придатність до участі у проведенні дослідження. Ця експертиза включає:

- оцінку даних медичного обстеження і історії хвороби з точки зору відповідності критеріям включення/виключення (повинні бути надані результати лабораторних досліджень для визначен-

ня відповідності критерію виключення 2, тобто креатинін, AST/ALT);

- буде здійснена поперекова пункція і відібрана проба цереброспінальної рідини. Проба буде спрямована до місцевої лабораторії для визначення рівнів GFAP та NFL.

Експериментальний день 1

Впродовж експериментального дня 1 перед першою ін'єкцією r-hGH повинні бути зібрані наведені нижче вихідні дані і зроблені такі оцінки:

- повна історія хвороби, не пов'язана з MSA;
- анамнез стану, який піддають дослідженню, у тому числі дата діагностування, підтип (якщо відомо) та попереднє лікування;

- підбірка демографічних даних, у тому числі дати народження, походження та стать;

- об'єктивне обстеження, у тому числі маса тіла та показники життєво важливих функцій;

- стан здоров'я у зв'язку із захворюванням, супровідна лікарська терапія та процедури;

- звичайна гематологія, клінічна біохімія, ендокринологія, аналіз сечі та антитіла проти hGH;

- хворому буде запропоновано заповнити анкету якості життя Нотингемського паспорту здоров'я (дивись нижче). Пояснення хворому будуть надані медичною сестрою, яка бере участь у дослідженні, або дослідником;

- дослідник визначить функціональну здатність хворого шляхом заповнення Уніфікованої шкали оцінок хвороби Паркінсона (UPDRS) (дивись нижче);

- постурально-локомоторно-мануальний (PLM) тест буде проведено дослідником, як описано нижче;

- дослідником буде проведено тестування вегетативної нервової системи (змінність частоти серцевих скорочень під час контрольованого форсованого дихання, зміни кров'яного тиску та частоти серцевих скорочень при нахилах).

3 місяць

На кінець 3 місяця будуть проведені вказані нижче процедури (не раніше тижня перед і не пізніше тижня після планового візиту):

- об'єктивне обстеження, у тому числі показники життєво важливих функцій;

- оцінка негативних явищ, супровідної лікарської терапії та процедур;

- звичайна гематологія, клінічна біохімія та аналіз сечі. 6 місяць

На кінець 6 місяця будуть проведені вказані нижче процедури (не раніше тижня перед і не пізніше тижня після планового візиту):

- об'єктивне обстеження, у тому числі показники життєво важливих функцій;

- звичайна гематологія, клінічна біохімія, ендокринологія, аналіз сечі та антитіл проти r-hGH;

- оцінка негативних явищ, супровідної лікарської терапії та процедур;

- буде здійснена поперекова пункція і відібрана проба цереброспінальної рідини. Проба буде відправлена до місцевої лабораторії для визначення рівнів GFAP та NFL;

- хворому буде запропоновано заповнити анкету якості життя Нотингемського паспорту здоров'я. Пояснення хворому будуть надані медичною

сестрою, яка бере участь у дослідженні, або дослідником;

- дослідник визначить функціональну здатність хворого шляхом заповнення Уніфікованої шкали оцінок хвороби Паркінсона (UPDRS);

- дослідником буде проведено тестування вегетативної нервової системи (змінність частоти серцевих скорочень під час контрольованого форсованого дихання, зміни кров'яного тиску та частоти серцевих скорочень при нахилах);

- якщо у хворого буде виявлено значне погіршення будь-яких із наведених нижче клінічних симптомів або результатів обстеження, доза буде підвищена для почергових добових ін'єкцій 1мг та 0,5мг;

- погіршення дизартрії, дисфагії, парезу, координації, ригідності, рівноваги, спроможності ходіння, нетримання сечі або статеві функції;

- підвищення рівнів NFL у цереброспінальній рідині;

- додаткове погіршення результатів тестів серцево-судинних рефлексів.

9 місяць

На кінець 9 місяця будуть проведені вказані нижче процедури (не раніше тижня перед і не пізніше тижня після планового візиту):

- об'єктивне обстеження, у тому числі показники життєво важливих функцій;

- оцінка негативних явищ, супровідної лікарської терапії та процедур;

- звичайна гематологія, клінічна біохімія та аналіз сечі.

12 місяць (або після виключення)

На кінець 12 місяця будуть проведені вказані нижче процедури (не раніше тижня перед і не пізніше тижня після планового візиту), тобто на кінець лікування r-hGH або після раннього виключення хворого з дослідження:

- об'єктивне обстеження, у тому числі показники життєво важливих функцій;

- звичайна гематологія, клінічна біохімія, ендокринологія, аналіз сечі та антитіл проти r-hGH;

- оцінка негативних явищ, супровідної лікарської терапії та процедур;

- буде здійснена поперекова пункція і відібрана проба цереброспінальної рідини. Проба буде відправлена до місцевої лабораторії для визначення рівнів GFAP та NFL;

- хворому буде запропоновано заповнити анкету якості життя Нотингемського паспорту здоров'я. Пояснення хворому будуть надані медичною сестрою, яка бере участь у дослідженні, або дослідником;

- дослідник визначить функціональну здатність хворого шляхом заповнення Уніфікованої шкали оцінок хвороби Паркінсона (UPDRS);

- буде здійснено постурально-локомоторно-мануальний (PLM) тест;

- буде проведено тестування вегетативної нервової системи (змінність частоти серцевих скорочень під час контрольованого форсованого дихання, зміни кров'яного тиску та частоти серцевих скорочень при нахилах).

У разі негативного явища, що відбувається, наприклад, клінічно значущого відхилення результатів лабораторних аналізів, відповідні експертизи

безпечності повинні повторюватись частіше та/або проводитись додаткові тести за клінічними показаннями (або за рішенням Дослідника) до зникнення цього явища або до закінчення 30 днів після останньої дози експериментального лікарського засобу, у залежності від того, який строк є коротшим.

Передчасне припинення дослідження і процедура заміни

Критерії припинення дослідження

Хворі будуть проінформовані про те, що вони мають право припинити участь у дослідженні у будь-який час, без виникнення перешкод для отримання майбутнього медичного обслуговування, і що вони не повинні пояснювати свої причини. Будь-яке припинення участі повинно бути повністю задокументоване у CRF із вивченням дослідником віддалених результатів.

Окрім того, дослідник може припинити участь хворого у дослідженні у будь-який час, якщо це вважається доцільним у інтересах хворого.

Під час проведення дослідження хворий може бути виключеним з такої причини:

- рівень токсичності 3 ступеня або 4 ступеня за (модифікованою) шкалою WHO, який вважається дослідником пов'язаним з експериментальним лікарським засобом.

Хворі можуть бути виключені з таких причин:

- переведення до відділення інтенсивної терапії;

- порушення протоколу, у тому числі порушення режиму прийняття лікарського засобу і втрата можливості проведення подальшого лікарського спостереження;

- серйозне інтеркурентне захворювання або значне погіршення перебігу інтеркурентного захворювання;

- негативні явища, або

- адміністративні причини.

Якщо хворий не повертається для проведення лікарського спостереження, слід зробити спробу зв'язатися з хворим для встановлення того, що причиною його неповернення не є негативне явище. Подібним чином, якщо хворий приймає рішення про припинення участі у дослідженні, наприклад, з особистих причин, слід зробити спробу встановлення того, що дійсною причиною не є негативне явище (приймаючи до уваги те, що хворі не повинні пояснювати своїх причин).

Якщо лікування експериментальним лікарським засобом припиняється передчасно, головна причина припинення повинна бути зареєстрована у відповідному розділі CRF і необхідно зробити усе можливе для максимально ретельного завершення і реєстрації результатів спостережень. Після припинення хворим участі у дослідженні повинна бути проведена повна кінцева експертиза, як описано у розділі 6.7. Будь-які негативні явища повинні відслідковуватись до їх зникнення або впродовж 30 днів після введення останньої дози експериментального лікарського засобу, у залежності від того, який строк є коротшим.

Процедура заміни

У разі, якщо хворий буде виключеним або прийме рішення про припинення участі у дослідженні, його або її номер повторно призначатись

нікому не буде. Усі непридатні (хворі, включені помилково, які не задовольняють критеріям включення) хворі повинні бути замінені, оскільки для оцінки результатів дослідження необхідно мати 40 придатних хворих.

Реєстрація негативних явищ

Визначення

Негативне явище (АЕ) визначається, як будь-який небажаний медичний випадок у хворого або суб'єкта клінічного дослідження, якому було введено фармацевтичний продукт, що не обов'язково має причинний зв'язок з цим лікуванням. Негативним явищем, таким чином, може бути будь-яка неблагоприятна або неочікувана ознака (у тому числі результати лабораторних обстежень, що відхиляються від норми), симптом або захворювання, що є тимчасово пов'язані із застосуванням медичного (експериментального) продукту, що мають або не мають відношення до медичного (експериментального) продукту.

Реєстрація

Усі негативні явища, як визначено вище, помічені під час проведення клінічного дослідження, а також будь-які серйозні негативні явища будуть реєструватись у відповідному розділі CRF. Важливо, щоб була зареєстрована тривалість негативного явища (дати початку/зникнення), тяжкість, зв'язок з лікарським засобом (можливий, ймовірний, неймовірний - дивись нижче), частота і будь-яке проведене супровідне лікування (або інші вжиті заходи).

Можливий (зв'язок): Клінічне явище, у тому числі результати лабораторних обстежень, що відхиляються від норми, з прийнятною часовою послідовністю відносно введення лікарського засобу, яке не може бути віднесене на рахунок одночасної хвороби або інших лікарських засобів або хімічних речовин і яке демонструє клінічно прийнятну реакцію у разі припинення хворим участі у дослідженні (припинення введення засобу). Для відповідності цьому визначенню необхідності у інформації щодо повторного введення лікарського засобу немає.

Ймовірний (зв'язок): Клінічне явище, у тому числі результати лабораторних обстежень, що відхиляються від норми, з прийнятною часовою послідовністю відносно введення лікарського засобу, яке, однак, може також пояснюватись одночасним захворюванням або іншими лікарськими засобами або хімічними препаратами. Інформація відносно припинення застосування лікарського препарату може бути відсутньою або незрозумілою.

Неймовірний (зв'язок): Клінічне явище, у тому числі результати лабораторних обстежень, що відхиляються від норми, з часовим зв'язком із ве-

денням лікарського засобу, який виключає можливість причинного зв'язку, і прийнятим поясненням якому можуть бути інші лікарські засоби, хімічні препарати або першопричинне захворювання.

Тяжкість негативних явищ буде класифікуватись за модифікованою шкалою класифікації токсичності WHO. Якщо спостерігається негативне явище, яке не підпадає під ці критерії, ступінь його тяжкості буде оцінюватись Дослідником за наведеними нижче визначеннями:

Легкий (ступінь): хворий усвідомлює явище або симптом, однак це явище або симптом легко переноситься.

Помірний (ступінь): хворий відчуває достатній дискомфорт, який заважає або знижує звичний для нього або неї рівень активності.

Тяжкий (ступінь): значне порушення функціонування: хворий є неспроможним до виконання своєї звичайної діяльності.

Становить загрозу для життя: негативне явище ставить під загрозу життя хворого.

Дані щодо негативних явищ будуть одержані з інформації, добровільно наданої хворим або шляхом опитування хворого. На додаток до цього, дані щодо негативних явищ будуть також збиратись завдяки веденню реєстраційної карти.

Серйозні негативні явища:

Серйозне негативне явище (SAE) визначається як будь-який небажаний медичний випадок, наслідком якого, при будь-якій дозі є:

- смерть;

- загроза для життя (тобто під час цього явища виникає загроза для життя хворого. Це не має відношення до явища, яке, гіпотетично, могло б спричинити смерть, якби було б більш тяжчим);

- необхідність госпіталізації або її продовження;

- постійне або значне порушення працездатності або непрацездатність;

- воно являє собою природжену аномалію або порок розвитку, або

- воно являє собою важливий у медичному відношенні стан (тобто стан, який може становити негайну загрозу для життя або призвести до смерті чи госпіталізації, однак з усією очевидністю має велике клінічне значення. Цей стан може ставити під загрозу життя хворого або може потребувати втручання для запобігання одного з інших серйозних наслідків. Прикладами таких явищ є інтенсивне лікування у кабінеті невідкладної допомоги або вдома з приводу алергічного бронхоспазму, патологічної зміни крові або конвульсій, наслідком яких не є госпіталізація хворого або розвиток залежності або зловживання лікарськими засобами).

Клінічні лабораторні параметри

Звичайні гематологічні аналізи:	Клінічна біохімія:
Гемоглобін	Натрій
Гематокрит	Калій
Еритроцити	Сечовина
Лейкоцити	Креатинін
Нейтрофіли ¹	Загальний білірубін
Лімфоцити ¹	Загальний білок
Моноцити ¹	Кальцій
Еозинофіли ¹	AST(SGOT) та/або ALT(SGPT)
Базофіли ¹	Лужна фосфатаза
Тромбоцити	Глюкоза
Реакція осадження еритроцитів ¹	Ендокринологія:
Електрофорез ¹	Вільний тироксин (FT4)
Аналіз сечі (вимірювальний стрижень):	Тиреотропін (тиреостимулювальний гормон TSH)
Білок	Кортизол
Глюкоза	Тестостерон (чоловіки)
Кетони	Фолікулостимулювальний гормон (FSH)
РН	Лютеїнізуючий гормон (LH)
Кров	Соматотропний гормон (GH)
	Інсуліноподібний фактор росту I (IGF-1)
	Зв'язувальний білок інсуліноподібного фактора росту 3 (IGFBP-3)
	Інсулін
	Антитіла проти соматотропного гормону

¹Ці тести будуть проведені лише під час першого візиту.

Усі наведені вище тести будуть проводитись із частотою, вказаною у наведеній нижче схемі проведення дослідження.

Збирання проб крові і одержання сироватки

Місцева лабораторна процедура: гематологія, біохімія крові, ендокринологія

Буде відбиратись 30мл крові (шість 4мл пробірок для сироватки і три 3мл пробірки для плазми з етилендіамінтетраоцтовою кислотою). Проби крові на гемоглобін, лейкоцити, тромбоцити, визначення лейкоцитарної формули, глюкозу будуть аналізуватись за звичайною для цієї лабораторії госпітальною процедурою. Усі інші проби будуть зберігатись у лікарні Sahlgrenska при температурі -80°C до проведення аналізів. Усі аналізи будуть проводитись у лабораторії лікарні університету Sahlgrenska.

Збирання проб сироватки на визначення анти-GH антитіл

Дві 5мл проби крові відбирають до пробірок без антикоагулянтів з інтервалами, вказаними у плані проведення дослідження (нижче). Усі проби сироваток будуть помічатись ідентифікаційним номером та ініціалами хворого, датою та часом

відбирання проби крові. Проби будуть відбиратись тоді, коли видасться зручний час (тобто не у якийсь визначений час, але впродовж зазначеного експериментального дня (днів)), з обов'язковою реєстрацією точного часу і дати відбирання проб. Точний час введення дози r-hGH перед відбиранням проби повинен реєструватись у CRF.

До простої пробірки відбирають 8мл крові, і сироватку одержують після згортання у холодильнику (максимальний час: 30хв). Центрифугування здійснюють при кімнатній температурі (3500об/хв впродовж 10хв (за інструкцією виробника)), сироватку збирають і поділяють на чотири 1мл аліквоти. Проби негайно заморожують при температурі -20°C або нижче до моменту відправки. Одна аліквота (заморожена) буде відправлена до центральної лабораторії, три будуть зберігатись у замороженому вигляді при температурі -20°C або нижче на місці проведення дослідження, як контролі. Проби будуть відправлені до центральної лабораторії помічником особи, що здійснює клінічні дослідження.

Схема проведення дослідження

Параметри	Обстеження перед початком дослідження	Експериментальний день 1	3 місяць	6 місяць	9 місяць	12 місяць
Згода на основі одержаної інформації	X					
Результати медичних досліджень і анамнез для задоволення критеріїв придатності	X					
Захворювання та терапевтичний анамнез		X ¹				
Демографічні дані		X ¹				
Об'єктивне обстеження і показники життєво важливих функцій		X ¹	X	X	X	X
Стан здоров'я, пов'язаний із захворюванням		X ¹				
Гематологія, біохімія і аналіз сечі		X ¹	X	X	X	X
Ендокринологія		X ¹		X		X
Антитіла проти hGH		X		X		X
Поперекова пункція для аналізу цереброспінальної рідини (GFAP, NFL)	X			X		X
Якість життя (NHP)		X		X		X
Оцінка функціонального стану (UPDRS)		X		X		X
Визначення PLM		X				X
Тестування вегетативної нервової системи		X		X		X
Експериментальне лікування		X	X	X ²	X	X
Визначення ступеня токсичності WHO			X	X	X	X
Реєстрація негативних явищ			X	X	X	X
Супровідна лікарська терапія і процедури		X	X	X	X	X

¹У разі проведення у межах 14 днів перед експериментальним днем 1, необхідності у повторенні цієї процедури немає

²У разі значного погіршення стану хворого, доза буде підвищена для почергового добового введення 1 мг та 0,5мг.

Уніфікована шкала оцінок хвороби Паркінсона (UPDRS)

Застосування UPDRS як оцінювального засобу для відслідковування тривалого перебігу хвороби Паркінсона є загальноприйнятим методом. Вона складається з таких розділів: 1) Розумовий процес, Поведінка та Настрій, 2) ADL, 3) Рухова діяльність. Ці показники оцінюються за даними співбесіди. Деякі розділи потребують введення численних ступенів для кожної кінцівки. У цілому, набирається 199 балів. 199 балів означає найгіршу (повну) втрату працездатності, 0 балів - повна працездатність.

1. Розумовий процес, Поведінка, Настрій

- Порушення інтелекту

0 - жодного;

1 - незначне (постійна забудькуватість із частковим згадуванням випадків без інших утруднень);

2 - помірна втрата пам'яті з порушенням орієнтування і помірними труднощами при вирішенні складних проблем;

3 - тяжка втрата пам'яті з порушенням орієнтування у часі і (часто) на місцевості, тяжкі труднощі при вирішенні проблем;

4 - тяжка втрата пам'яті з орієнтацією лише на людей, нездатність до прийняття рішень або вирішення проблем.

- Розлад мислення

0 - жодного;

1 - яскраві сновидіння;

2 - "доброякісна" галюцинація зі збереженням адекватної самооцінки;

3 - випадкові до частих галюцинації або марення без адекватної самооцінки; це може перешкоджати повсякденній діяльності;

4 - постійні галюцинації, марення або активний психоз.

- Депресія

0 - відсутня;

1 - періоди смутку або відчуття провини, які перевищують норму; ніколи не тривають більше декількох днів або тижня;

2 - постійна депресія впродовж >1 тижня;

3 - вегетативні симптоми (безсоння, анорексія, абуття, втрата маси);

4 - вегетативні симптоми зі схильністю до самовбивства.

- Мотивація/Ініціатива

0 - у нормі;

1 - менш самовпевнена, більш пасивна;

2 - втрата ініціативи, незацікавленість у вибірковій діяльності;

3 - втрата ініціативи, незацікавленість у повсякденній діяльності;

4 - утримання від діяльності, повна втрата мотивації.

II. Повсякденна діяльність

- Мова

0 - нормальна;

1 - незначне відхилення від норми, легко зрозуміла;

2 - помірне відхилення від норми, можуть повторити;

3 - сильне відхилення від норми, часто прохають повторити;

4 - більшістю нерозбірлива.

- Слиновиділення

0 - у нормі;

1 - незначне але помітне посилення, може бути нічна слинотеча;

2 - помірно збільшена кількість слини, мінімальна слинотеча;

3 - явно виражена слинотеча.

- Ковтання

0 - нормальне;

1 - зрідка коли давиться їжею;

2 - періодично давиться їжею;

3 - потребує м'якої їжі;

4 - потребує живильної трубки або зонда.

- Почерк

0 - нормальний;

1 - дещо зменшений або повільніший;

2 - усі слова невеликі, але розбірливі;

3 - сильно погіршений, не усі слова розбірливі;

4 - переважно нерозбірливий.

- Нарізання їжі/Маніпуляції з посудом

0 - у нормі;

1 - деяке уповільнення та незграбність, але допомоги не потребує;

2 - може нарізати більшість харчових продуктів, але потребує деякої допомоги;

3 - їжа повинна бути нарізаною, але їсти може самостійно;

4 - необхідно годувати.

- Одягання

0 - у нормі;

1 - деяке уповільнення, але допомоги не потребує;

2 - періодична допомога з гудзиками або вставленням рук у рукава;

3 - потребує значної допомоги, але дещо може зробити і самостійно;

4 - безпомічний.

- Гігієна

0 - у нормі;

1 - деяке уповільнення, але допомоги не потребує;

2 - потребує допомоги при користуванні душем або ванною і дуже повільно здійснює гігієнічні заходи;

3 - потребує допомоги під час купання, чищення зубів, супроводу до ванної кімнати;

4 - безпомічний.

- Перевертання у ліжку/Приведення у порядок постільної білизни

0 - у нормі;

1 - деяке уповільнення, але допомоги не потребує;

2 - може перевертатись самостійно або застелити простирадло, але з великими труднощами;

3 - може розпочати перевертання, але самостійно до кінця не може перевернутися і не може застелити простирадло;

4 - безпомічний.

- Падіння - Не пов'язане із змерзанням

0 - не спостерігається;

1 - рідкі випадки падіння;

2 - періодично, не частіше одного разу на день; 3-у середньому, один раз на день;

4 - більше 1 разу на день.

- Змерзання під час ходіння

0 - у нормі;

1 - подеколи; можуть з'явитись ознаки непевності;

2 - періодичні падіння, викликані змерзанням;

3 - часте змерзання, періодичні падіння;

4 - часті падіння унаслідок змерзання.

- Ходіння

0 - нормальне;

1 - незначні труднощі, може виникнути човгання або зменшитися розмахування руками;

2 - помірні труднощі без виникнення необхідності у сторонній допомозі;

3 - тяжкі розлади, що обумовлюють необхідність сторонньої допомоги;

4 - зовсім не може ходити навіть із допомогою.

- Тремор

0 - відсутній;

1 - незначний і нечастий, хворого не турбує;

2 - помірний, хворого турбує;

3 - тяжкий, перешкоджає у багатьох діях;

4 - явно виражений, перешкоджає у багатьох діях.

- Сенсорні скарги, пов'язані із паркінсонізмом

0 - жодних;

1 - періодично виникає відчуття оніміння, поколювання і незначні больові відчуття;

2 - часто, але це не спричинює страждань;

3 - часто з'являються больові відчуття;

4 - нестерпний біль.

III. Перевірка рухової діяльності

- Мова

0 - нормальна;

1 - незначна втрата виразності, погіршення дикції та гучності;

2 - монотонна, невиразна але зрозуміла, помірно порушена;

3 - явно виражене порушення, важка для зрозуміння;

4 - нерозбірлива.

- Вираз обличчя

0 - нормальний;

1 - незначне зниження міміки, обличчя може бути незворушним;

2 - незначне але чітко виражене патологічне ослаблення виразності;

3 - помірне зниження міміки, губи деякий час розкриті;

4 - маскоподібне або нерухоме обличчя, губи розкриті на 1/4 дюйма або більше, обличчя зовсім не має виразу.

- Тремор у стані покою

- Обличчя

0 - жодного;

1 - легкий і рідкий;

2 - незначний і присутній більшість часу;

3 - помірний і присутній більшість часу;

4 - явно виражений і присутній більшість часу.

- Права верхня кінцівка (RUE)

0 - жодного;

1 - легкий і рідкий;

2 - незначний і присутній більшість часу;

3 - помірний і присутній більшість часу;

4 - явно виражений і присутній більшість часу.

- Ліва верхня кінцівка (LUE)

0 - жодного;

1 - легкий і рідкий;

2 - незначний і присутній більшість часу;

3 - помірний і присутній більшість часу;

4 - явно виражений і присутній більшість часу.

- Права нижня кінцівка (RLE)

0 - жодного;

1 - легкий і рідкий;

2 - незначний і присутній більшість часу;

3 - помірний і присутній більшість часу;

4 - явно виражений і присутній більшість часу.

- Ліва нижня кінцівка (LLE)

0 - жодного;

1 - легкий і рідкий;

2 - незначний і присутній більшість часу;

3 - помірний і присутній більшість часу;

4 - явно виражений і присутній більшість часу.

- Постуральний тремор або тремор під час виконання дій

- Права верхня кінцівка (RUE)

0 - жодного;

1 - легкий, спостерігається під час виконання дій;

2 - незначний, спостерігається під час виконання дій;

3 - помірний, спостерігається під час виконання дій і підтримування положення тіла;

4 - явно виражений, заважає годуванню.

- Ліва верхня кінцівка (LUE)

0 - жодного;

1 - легкий, спостерігається під час виконання дій;

2 - незначний, спостерігається під час виконання дій;

3 - помірний, спостерігається під час виконання дій і підтримування положення тіла;

4 - явно виражений, заважає годуванню.

- Ригідність

- Шия

0 - відсутня;

1 - незначна або лише під час виконання дій;

2 - легка/помірна;

3 - явно виражена, повний діапазон рухів;

4 - тяжка.

- Права верхня кінцівка (RUE)

0 - відсутня;

1 - незначна або лише під час виконання дій;

2 - легка/помірна;

3 - явно виражена, повний діапазон рухів;

4 - тяжка.

- Ліва верхня кінцівка (LUE)

0 - відсутня;

1 - незначна або лише під час виконання дій;

2 - легка/помірна;

3 - явно виражена, повний діапазон рухів;

4 - Тяжка.

- Права нижня кінцівка (RLE)

0 - відсутня;

1 - незначна або лише під час виконання дій;

2 - легка/помірна;

3 - явно виражена, повний діапазон рухів;

4 - тяжка.

- Ліва нижня кінцівка (LLE)

0 - відсутня;

1 - незначна або лише під час виконання дій;

2 - легка/помірна;

3 - явно виражена, повний діапазон рухів;

4 - тяжка.

- Постукування кінцями пальців

- Права рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Ліва рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Рухи руками (відкривання та закривання долонь у швидкій послідовності)

- Права рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки.

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Ліва рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Швидкі поступово-зворотні рухи (пронація-супінація)

- Права рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Ліва рука

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Рухливість ніг (постукування п'яткою по землі, амплітуда повинна дорівнювати 3 дюймам)

- Права нога

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - тяжке порушення. Часта непевність і зупинки;

4 - майже неспроможний до дії.

- Ліва нога

0 - у нормі;

1 - незначне уповільнення та/або зменшення амплітуди;

2 - помірне порушення. Чітко виражена і рання втомлюваність, можуть траплятись періодичні зупинки;

3 - Тяжке порушення. Часта непевність і зупинки.

4 - Майже неспроможний до дії.

- Вставання зі стільця (хворий підіймається з руками, згорнутими на груді)

0 - у нормі;

1 - повільно, може знадобитись більше однієї спроби;

2 - самостійно відштовхується від билець або сидіння;

3 - може впасти назад, може потребувати численних спроб, але може встати без сторонньої допомоги;

4 - не може встати без допомоги.

- Положення тіла

0 - нормальне, випрямлене;

1 - дещо згорблене, може бути нормальним для літньої людини;

2 - явно ненормальне, помірно згорблене, може бути нахиленим набік;

3 - сильно згорблене з кіфозом;

4 - явно виражене згинання з надзвичайно ненормальним положенням тіла.

- Хода

0 - нормальна;

1 - ходить повільно, може човгати з маленькими кроками, дріботливість ходи або пропульсія відсутні;

2 - ходить з труднощами, потребує незначної або зовсім не потребує допомоги, деяка дріботливість, маленькі кроки або пропульсія;

3 - тяжке порушення ходи, часто потребує сторонньої допомоги;

4 - не може ходити.

- Стабільність положення тіла (ретропульсійна проба)

0 - у нормі;

1 - відновлює положення без сторонньої допомоги;

2 - може впасти, якщо не підтримають;

3 - спонтанні падіння;

4 - стояти не може.

- Брадикинезія/гіпокинезія тіла

0 - жодної;

1 - мінімальна уповільненість, може мати нормальний, навмисний характер;

2 - мінімальна уповільненість і обмеження діапазону рухів, явно ненормальна або зменшена амплітуда рухів;

3 - помірна уповільненість, обмеження діапазону рухів або невелика амплітуда;

4 - явно виражена уповільненість, обмеження діапазону рухів або невелика амплітуда.

Нотінгемський паспорт здоров'я

Застосування цієї анкети є загальноприйнятим способом визначення якості життя.

Нижче наведено перелік проблем, які виникають у людей у повсякденному житті. Уважно перечитайте цей перелік і поставте "галочку" у рамці "ТАК" проти будь-якої проблеми, яка має відношення до вас саме у цей момент. Поставте "галочку" у рамці "НІ" проти будь-якої проблеми, яка відношення до вас не має. Дайте відповідь на кожне запитання. Якщо ви не впевнені, яку відповідь (ТАК або НІ) надати, ставте "галочку" там, де ви гадаєте вона є найбільш доречною на цей момент.

	ТАК	НІ
1	2	3
Я постійно відчуваю втому		
Я відчуваю біль у нічний час		
Мене все пригнічує		
Я відчуваю нестерпний біль		
Я приймаю таблетки для того, щоб заснути		
Я забув, що означає "радіти"		

Я відчуваю себе на межі		
Мені боляче змінювати положення		
Я відчуваю самотність		
Я можу гуляти лише неподалік від домівки		

Продовження таблиці

1	2	3
Мені важко нахилятись		
До всього треба докладати зусилля		
Я прокидаюсь рано-вранці		
Я зовсім не можу ходити		
Мені важко спілкуватись із людьми		
Видається, що дні тягнуться так повільно		
Мені важко підійматися або спускатися сходами		
Мені важко дотягуватись до речей		
Я відчуваю біль при ходінні		
Останніми днями я легко втрачаю самовладання		
Мені здається, немає нікого, для кого я був би близьким		
Я не сплю більшу частину ночі		
Мені здається, я втрачаю контроль над собою		
Я відчуваю біль стоячи		
Мені важко одягатися		
Я швидко стаю виснаженим		
Мені важко довго стояти (наприклад, біля кухонної раковини, на автобусній зупинці)		
Я постійно відчуваю біль		
Я дуже довго засинаю		
Я відчуваю себе тягарем для людей		
Ночами я прокидаюсь від занепокоєння (тривоги)		
Мені здається, що жити не варто		
Я погано сплю ночами		
Мені важко жити у злагоді з людьми		
Мені потрібна допомога під час прогулянок (наприклад, апарат для ходіння або хто-небудь для підтримки)		
Я відчуваю біль, коли підіймаюсь або спускаюсь сходами		
Я прокидаюсь із відчуттям депресії		
Я відчуваю біль, коли сиджу		

Тепер поверніться до самого початку і перевірте, чи відповіли ви "ТАК" або "НІ" на кожне питання анкети.

Опис постурально-локомоторно-мануального тесту

(Джонелс Б. (Johnels B.), Інгварссон П.Е. (Ingvarsson P.E.), Торселіус М. (Thorselius M.), Баліс М. (Valis M.), Стер Г. (Steg G.) Disability profiles and objective quantitative assessment in Parkinson's disease. Acta Neurol. Scand., 1989:79:227-238).

Постурально-локомоторно-мануальний (PLM) тест є новим методом, призначеним для встановлення ступеня втрати працездатності при хворобі Паркінсона. Під час проведення цього тесту оптоелектронна камера реєструє рухи тіла хворого, який вільно рухається. За допомогою комп'ютерної програми, характеристики рухової активності одержують кількісну оцінку, що забезпечує одержання об'єктивних висновків.

Методика проведення тесту

PLM тест вимагає того, щоб суб'єкт підняв предмет із підлоги, пройшов вперед і поклав цей предмет на полицю, яка знаходиться на рівні його підборіддя, тим самим примушуючи своє тіло змінювати положення, рухатись вперед, а також здій-

снювати цілеспрямовані рухи руками. Цей тест, завдяки порівнянню з характеристиками нормальних суб'єктів того самого віку, може застосовуватись для визначення ступеня розладу положення тіла, рухових дій тіла та рук, усіх елементарних рухових функцій, необхідних для незалежного життя, які часто є порушеними при хворобі Паркінсона.

Ідея, покладена в основу цього тесту, полягає у тому, що хворі на паркінсонізм відрізняються один від одного за ступенем і характером дегенерації допамінових нервових клітин головного мозку, і це, у кожному випадку, буде спричинювати різний ступінь постуральних, локомоторних і мануальних порушень, характер втрати працездатності і вимагатиме індивідуалізованого лікування. У такому разі, PLM тест повинен прислужитись для реєстрації та кількісного визначення цих характеристик для кожного хворого, як основи раціонального лікування.

Опис тестування вегетативної нервової системи

Холмберг Б. (Holmberg B.), Калльо М. (Kallio M.), Джонелс Б. (Johnels B.), Елам М. (Elam M.) Cardiovascular Reflex Testing contributes to Clinical

Evaluation and Differential Diagnosis of Parkinsonian Syndromes.

Усі тести вегетативної нервової системи здійснюються у відділі клінічної нейрофізіології, де основу звичайних клінічних тестів функціонування вегетативної автономної системи становить часовий аналіз частоти серцевих скорочень та кров'яного тиску. Суб'єктів вкладають і закріплюють на столі, що нахилиється, і розпочинають реєстрацію частоти серцевих скорочень і кров'яного тиску. Вдаються як до безперервного неінвазивного вимірювання кров'яного тиску за принципом фіксації об'єму із закріпленням манжети на пальці (Finapres, Ohmeda Monitoring Systems, Englewood, штат Колорадо, США), так і до автоматичного сфінгмоманометричного методу (сфінгмоманометр BP-203Y, Nippon Colin Co, Muranaka, Komaki-City, Японія) з вміщенням манжети на ліве передпліччя. Частота серцевих скорочень реєструється комп'ютерною програмою, яка запускається імпульсним сигналом з апарату Finapres. Синусову аритмію реєструють впродовж 60-секундних періодів, у стані спокою та під час форсованого дихання (6 дихальних циклів на період) і обчислюють за формулою: $100(HR_{max}-HR_{min})/HR_{mean}$, де HR - частота серцевих скорочень, HR_{max} - максимальна частота серцевих скорочень, HR_{min} - мінімальна частота серцевих скорочень, HR_{mean} - середня частота серцевих скорочень.

Після цього здійснюють ортостатичні тести, для чого час зміни положення столу, що нахилиється, з горизонтального до нахилоного з головною частиною під кутом 75°, обмежують двома секундами. Основу кількісних змін частоти серцевих скорочень і кров'яного тиску під час нахилів впродовж 8хв становлять сфінгмоманометричні дані, оскільки помітили, що позбутися гідростатичних помилок, у разі застосування обладнання фірми Finapres, важко навіть у тому разі, коли пальцева манжета вміщується на рівні серця. У декількох хворих за допомогою сигналу апарату фірми Finapres вдалось здійснити якісну реєстрацію швидкого та явно вираженого падіння ортостатичного кров'яного тиску, у той час як за допомогою манжети на передпліччі одержати надійні показники тиску до того, як хворі повинні були бути повернені у горизонтальне положення з причини появи симптомів знепритомніння, не вдалось.

Діагностичні критерії MSA Множинна системна атрофія

(Гілман С (Gilman S.), Лоу П.А. (Low P.A.), Куїн Н. (Quinn N.) та інші Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. J. Auton. Nerv. Syst. 1998; 74:189-192).

Таблиця 1: Клінічні ділянки, особливості та критерії, що застосовуються при діагностуванні MSA

I. Дисфункція вегетативної нервової системи і сечових шляхів

A. Особливості дисфункції вегетативної нервової системи і сечових шляхів

1. Ортостатична гіпотензія (систолический кров'яний тиск 20мм рт.ст. або діастолічний кров'яний тиск 10мм рт.ст.).

2. Нетримання сечі або неповне випорожнювання сечового міхура.

B. Критерії недостатності вегетативної нервової системи або порушення функції сечових шляхів при MSA

Ортостатичне падіння кров'яного тиску (систолический кров'яний тиск 30мм Hg або діастолічний кров'яний тиск 15мм Hg) або нетримання сечі (постійне, мимовільне часткове або повне випорожнювання сечового міхура, що супроводжується порушенням ерекційної функції у чоловіків) або те та інше.

II. Паркінсонізм

1. Брадикинезія (уповільнення довільних рухів із прогресуючим зниженням швидкості та амплітуди під час повторних дій).

2. Ригідність.

3. Нестабільність положення тіла (головною причиною не є порушення функції зору, вестибулярного апарату, мозочка або пропріоцептивних нервових закінчень)

4. Тремор (постуральний, у стані спокою або те та інше).

B. Критерії визначення паркінсонізму при MSA

Брадикинезія плюс щонайменше один із пунктів 2-4.

III. Порушення функції мозочка

A. Особливості порушення функції мозочка

1. Рухова атаксія (поза з широко розставленими ногами та кроками різної довжини та спрямованості).

2. Атаксична дизартрія.

3. Атаксія кінцівок.

4. Постійний ністагм, викликаний пильним поглядом.

B. Критерії визначення порушення функції мозочка при MSA Рухова атаксія плюс щонайменше один з пунктів 2-4.

IV. Порушення функції корково-спинномозкового шляху

A. Особливості порушення функції корково-спинномозкового шляху

. Екстензорні плантарні реакції з гіперрефлексією.

B. Порушення функції корково-спинномозкового шляху при MSA: при встановленні діагнозу MSA, особливості порушення функції корково-спинномозкового шляху не приймають до уваги.

Особливість (A) є характерною для захворювання, а критерій (B) є визначальною особливістю або складовою особливостей, необхідних для встановлення діагнозу.

Таблиця 2: Діагностичні категорії MSA

I. Можлива MSA: Один критерій плюс дві особливості з окремих інших ділянок. У разі, коли критерієм є паркінсонізм, мінімальна реакція на препарат леводопа кваліфікується як одна особливість (таким чином, необхідною є лише одна додаткова особливість).

II. Ймовірна MSA: Критерій для: порушення функції вегетативної нервової системи/порушення функції сечових шляхів плюс паркінсонізм зі слабо вираженою реакцією на препарат леводопа або порушення функції мозочка.

III. Визначена MSA: Підтвердження патологічними даними, а саме присутністю гіаліних цитоплазматичних включень високої густини у поєд-

нанні з комбінацією дегенеративних змін у екстрапірамідних та олівомозочкових шляхах.

Таблиця 3: Критерії виключення для діагностування MSA

I. Анамнез

Поява симптомів до 30-річного віку.

Сімейний анамнез подібного розладу.

Системні захворювання або інші причини, що піддаються визначенню, особливостей, наведених у Таблиці 1.

Галюцинації, не пов'язані з лікарською терапією.

II. Об'єктивне обстеження

Критерії DSM (Порадник зі статистики та діагностики психічних порушень) для діагностування деменції.

Явно виражене уповільнення вертикальних сакад або супрануклеарний параліч вертикальних очних м'язів.

Ознаки вогнищевої кортикальної дисфункції, наприклад, афазія, синдром "чужої руки" і парієтальна дисфункція.

III. Лабораторні дослідження

Метаболічні, молекулярно-генетичні та томографічні дані на користь альтернативної причини особливостей, наведених у Таблиці 1.

Результати після шести місяців

Вихідні характеристики

До цього проміжного аналізу, проведеного з метою виявлення рівня безпечності, з у загальній кількості 43 довільно розподілених хворих були відібрані 18 хворих (9 хворих з плацебо-групи, 9 хворих з r-hGH-групи). 12 хворих з цих 18 хворих були включені до аналізу з метою встановлення ефективності (6 хворих з плацебо-групи, 6 хворих з r-hGH-групи).

Демографічні дані

Між двома групами не було виявлено жодних демографічних різниць. У плацебо-групі були виявлені дещо більші показники маси та індексу маси тіла, але це не має жодного клінічного значення.

Тип захворювання

Між експериментальними групами не було виявлено різниці щодо розподілу типу захворювання, тобто MSA-P або MSA-C. Звернули, однак, увагу на загальний розподіл типу захворювання. В "нормальній" групі хворих слід очікувати виявлення приблизно 2/3 хворих із MSA-P і 1/3 хворих із MSA-C. Однак у групі, яку піддавали згаданому аналізу, було виявлено однаковий 50% розподіл по кожному з типів. Існував лише один центр, що відповідав очікуваним характеристикам. У двох інших центрах спостерігалась незначна перевага MSA-C над MSA-P.

Ці різниці не мали жодного клінічного значення, приймаючи до уваги добрий розподіл між експериментальними групами.

Симптоми захворювання

Середній проміжок часу від моменту діагностування MSA до першої дози експериментального лікарського засобу був дещо коротшим у хворих, які одержували r-hGH (приблизно 1,5 роки, порівняно з 2 роками у хворих плацебо-групи). Однак, після докладнішого аналізу цих даних було встановлено, що, приймаючи до уваги інші симптоми,

що застосовувались для діагностування MSA, захворювання у хворих тривало впродовж приблизно 3-5 років, а не 2 зареєстрованих років.

Параметри ефективності

Для визначення ефективності придатними були лише хворі, що завершили 6-місячний експериментальний період, тобто хворі, які припинили участь у експерименті раніше 6 місяців, виключались. Унаслідок цього були виключені 6 хворих, по 3 хворих з кожної експериментальної групи. Повідомили, що двоє хворих вмерли на стадії лікування: один із приводу дихальної недостатності та недостатності кровообігу, а другий від гострого інфаркту міокарда. Троє хворих були виключені з причини негативних явищ, а двоє хворих припинили участь за власним бажанням.

Таким чином, для аналізу з метою виявлення ефективності було залучено 12 хворих, по 6 хворих з кожної експериментальної групи.

Перевірка рухової активності

Під час аналізу оцінки у балах від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено підвищення середніх рівнів у обох експериментальних групах. Однак було видно, що рівень у плацебо-групі підвищився більше, ніж рівень у r-hGH-групі. Рівень змін, що спостерігався в r-hGH-групі, був набагато кращим, ніж можна було очікувати за нормальних умов.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Загальна оцінка за UPDRS

Під час аналізу оцінки у балах від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено підвищення середніх рівнів у обох експериментальних групах. Однак було видно, що рівень у плацебо-групі підвищився більше, ніж рівень у r-hGH-групі. Звернули увагу на те, що це було ймовірно супровідним ефектом доброго результату оцінки рухової активності у балах. Нормальним є підвищення у приблизно 10-15 балів, а середня зміна у r-hGH-групі була дещо нижчою.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Тестування вегетативної нервової системи

Частота серцевих скорочень при форсованому диханні

Під час аналізу змін рівня частоти серцевих скорочень при форсованому диханні від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено зменшення середнього рівня змін у плацебо-групі, порівняно з підвищенням середніх рівнів у r-hGH-групі. Фактично середній рівень у r-hGH-групі майже подвоївся від вихідного рівня до 6 місяців.

Ці результати виглядають дуже перспективними і вказують на існування кращої регуляції частоти серцевих скорочень за допомогою r-hGH, порівняно з плацебо.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Середній артеріальний кров'яний тиск (МАР)

Під час аналізу змін рівня МАР при форсованому диханні від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено зменшення середнього рівня змін у пла-

цебо-групі, порівняно з підвищенням середніх рівнів у r-hGH-групі.

Ці результати виглядають дуже перспективними і вказують на існування кращої регуляції кров'яного тиску за допомогою r-hGH, порівняно з плацебо.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Нотінгемський паспорт здоров'я

Біль

Під час аналізу рівня змін оцінки болю у балах з NHP від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено незначне підвищення середнього рівня змін у плацебо-групі, порівняно з дуже незначною зміною середнього рівня у r-hGH-групі. Це може вказувати на благотворність r-hGH.

Емоції

Під час аналізу рівня змін оцінки емоцій у балах із NHP від вихідного рівня до 6 місяців була виявлена дуже незначна зміна у середньому рівні змін у плацебо-групі, порівняно зі зниженням середнього рівня змін у r-hGH-групі. Це може вказувати на корисність r-hGH.

Фізичний стан

Під час аналізу рівня змін оцінки фізичного стану у балах з NHP від вихідного рівня до 6 місяців було виявлено незначне підвищення середнього рівня змін у плацебо-групі, порівняно з дуже незначною зміною середнього рівня змін у r-hGH-групі. Це може вказувати на корисність r-hGH.

Кров'яний тиск у положенні супінації

Під час аналізу рівня змін кров'яного тиску у положенні супінації від вихідного рівня до 6 місяців у обох експериментальних груп було виявлено підвищення середнього рівня. Рівень підвищення у плацебо-групі був дещо нижчим за рівень підвищення у r-hGH-групі.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Кров'яний тиск у положенні стоячи

Під час аналізу рівня змін кров'яного тиску у положенні стоячи від вихідного рівня до 6 місяців у обох експериментальних групах було виявлено підвищення середнього рівня. Рівень підвищення у плацебо-групі був набагато нижчим за рівень підвищення у r-hGH-групі. Звернули увагу на те, що це співпадало з напрямком змін у відношенні вегетативної нервової системи і знову показувало можливість благотворності r-hGH.

Таким чином, дійшли висновку про появу клінічної різниці між експериментальними групами на користь r-hGH.

Висновки щодо ефективності

У цілому спостерігається позитивний вплив r-hGH на змінні характеристики вегетативної нервової системи, тобто частоту серцевих скорочень, середній артеріальний кров'яний тиск і кров'яний тиск. Може спостерігатись також вплив на симптоми рухової активності за шкалами оцінок. Таким чином, r-hGH пропонується, як новий лікарський засіб для множинної системної атрофії.

Посилання

1. Adelman et al., DNA 2:183 (1983).

2. Alba-Roth et al., J. Clin. Endocrin. Metab. 67:1186-1189 (1988).

3. Albertsson-Wikland et al., Acta Paediatr. Scand. 75:89 (1986).

4. Andersson K., Fuxe K., Eneroth P., Isaksson O., Nyberg F., Roos P. Rat growth hormone and hypothalamic catecholamine nerve terminal systems. Evidence for rapid and discrete reductions in dopamine and noradrenaline levels in the median eminence of the hypophysectomized male rat. Eur. J. Pharmacol. 1983; 95:271-275.

5. Altschul S.F. et al., J. Mol. Biol., 215, 403-410, 1990.

6. Altschul S.F. et al., Nucleic Acids Res., 25:389-3402, 1997.

7. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publications and Wiley Interscience (New York, 1987-1998).

8. Bandmann O., Sweeney M.G., Daniel S.E., Wenning G.K., Quinn N.P., Marsden C.D., Wood N.W. Multiple system atrophy is genetically distinct from identified inherited causes of spinocerebellar degeneration. Neurology 1997; 49:1598-1604.

9. Becker et al., Biotechnol. Appl. Biochem. 10:326 (1988).

10. Bewly et al., Int. J. Peptide and Protein Res. 4:281-287 (1972).

11. Bowers et al., Endocrinology 128:2027-2035 (1991).

12. Burman P., Broman J.E., Hetta J., Wiklund I., Erfurth E.M., Hagg E., Karlsson F.A. Quality of life in adults with growth hormone (GH) deficiency: response to treatment with recombinant human GH in a placebo-controlled 21 month trial. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995; 80:3585-90.

13. Camanni et al., Front. Neuroendocrinology 19:47-72 (1998).

14. Clemmons D.R., Jones J.I., Busby W.H., Wright G.: Role of insulin like growth factor binding proteins in modifying IGF action. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1993 Aug. 27;692:10-21. Gilman S., Low P.A., Quinn N. et al. Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. J. Auton. Nerv. Syst. 1998; 74:189-192.

15. Chen et al., Genomics 4:479-497 (1989).

16. Daniel S.E. The neuropathology and neurochemistry of multiple system atrophy. In: Mathias C.J., Bannister R., eds. Autonomic failure: a textbook of the autonomic nervous system. 4th ed. Oxford: Oxford University Press; 1999, p. 321-328.

17. DeNoto et al., Nucleic Acids Res. 9:3719 (1981) 18. Devereux J. et al, Nucleic Acids Res., 12, 387-395, 1984.

19. Elias Eriksson. Experimental psychoneuroendocrinology: Brain 3 adrenoceptor function and growth hormone release. Thesis, Goteborg University 1985.

20. Felix et al., Int. J. Peptide Protein Res. 46:253-264 (1995).

21. Friend et al., Eur. J. Endocrinol. 137:377-386 (1997).

22. Gertler et al., Endocrinology 118:720 (1986).

23. Gilman S., Low P.A., Quinn N. et al. Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. J. Auton. Nerv. Syst. 1998; 74:189-192.

24. Ghigo et al., Ann. Med. 30:159-168 (1998).

25. Goeddel et al. *Nature*, 281:544 (1979).
26. Graff et al., *J. Biol. Chem.* 257:2365 (1982).
27. Grantham, *Science*, Vol. 185, pp. 862-864 (1974).
28. Harvey S., Hull K.L., Fraser R.A. Mini-review; Growth Hormone: Neurocrine and neuroendocrine perspectives. *Growth Reg* 1993; 3:161-171.
29. Holmberg B., Rosengren L., Karlsson J.E., Johnels B. Increased cerebrospinal fluid levels of neurofilament protein in progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy compared with Parkinson's Disease. *Mov. Disorders* 1998; 13:70-77.
30. Hsiung et al., *Biotechnology* 7:267 (1989).
31. Hughes A.J., Lees A.J., Stern G.M. Apomorphine test to predict dopaminergic responsiveness in parkinsonian syndromes. *Lancet* 1990; 336:32-34.
32. Hughes A.J., Lees A.J., Stern G.M. Challenge test to predict the dopaminergic response in untreated Parkinson's disease. *Neurology* 1991; 41:1723-1725.
33. Hughes A.J., Colosimo C., Kleedorfer B., Daniel S.E., Lees A.J. The dopaminergic response in multiple system atrophy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1992; 55:1009-1013c.
34. Johansson J.-O., Wiren L., Bengtsson B.-A. Growth Hormone and psychosocial and central nervous effects (in: *Growth hormone in adults - physiological and clinical aspects*, 2-nd edition, edited by Dr. A. Juul and Dr. J.O.L. Jorgensen). Cambridge University Press 2000:349-372.
35. Jorgenson et al., *Pharmacol. Toxicol.* 63:129 (1988).
36. Kimber et al. Distinction of idiopathic Parkinson's disease from multiple-system atrophy by stimulation of growth hormone release with clonidine. *Lancet* 1997; 349:1877-1881.
37. Kimber J., Mathias C.J., Lees A.J., Bleasdale-Barr K., Chang H.S., Churchyard A., Watson L. Physiological, pharmacological and neurohormonal assessment of autonomic function in progressive supranuclear palsy. *Brain* 2000; 123:1422-1430.
38. Klein C., Brown R., Wenning G., Quinn N. The "cold hands sign" in multiple system atrophy. *Mov. Disord.* 1997; 12:514-518.
39. Kraft E., Schwartz J., Trenkwalder C., Vogl T., Pluger T., Oertel W. The combination of hypointense and hyperintense signal changes on T2-weighted magnetic resonance imaging sequences. A specific marker of multiple system atrophy? *Arch. Neurol.* 1999; 56:225-228.
40. Lewis et al., *Endocrinology* 101:1587 (1977).
41. Lewis et al., *J. Biol. Chem.* 253:2679 (1978).
42. Lewis et al., *Endocrinology* 104:1256 (1979).
43. Lewis et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 92:511 (1980).
44. Lewis et al., *J. Biol. Chem.* 256:11645 (1981).
45. Litvan I., Agid Y., Calne D., Campbell G., Dubois B., Duvoisin R.C., Goetz C.G., Golbe L.I., Grafman J., Growdon J.H., Hallett M., Jankovic J., Quinn N.P., Tolosa E., Zee D.S. *Neurology* 1996 Jul; 47(1):1-9.
46. Litvan I., Goetz C.G., Jankovic J., Wenning G.K., Booth V., Bartko J.J., McKee A., Jellinger K., Lai E.C., Brandel J.P., Verny M., Chaudhuri K.R., Pearce R.K., Agid Y. What is the accuracy of the clinical diagnosis of multiple system atrophy? A clinicopathologic study. *Arch. Neurol.* 1997; 54:937-944.
47. Martial et al., *Science* 205:602-607 (1979).
48. Meinkoth J., Wahl G. Hybridization of nucleic acids immobilized on solid supports. *Anal. Biochem.* 1984 May 1; 138(2):267-284.
49. Moore et al., *Endocrinology* 122:2920 (1988).
50. Pearson W.R. *Methods in Enzymology*, 183, 63-99, 1990.
51. Pearson W.R. and Lipman D.J., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 85, 2444-2448, 1988.
52. Polo K.B., Jabbari B. Botulinum toxin-A improves the rigidity of progressive supranuclear palsy. *Ann. Neural.* 1994; 35:237-239.
53. Quinn N. Multiple System Atrophy-The nature of the beast. *J. Neurol., Neurosurg Psychiatry* 1989; Special Supplements:78-89.
54. Rosengren L.E., Wikkelsø C. and Hagberg L. A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: Application in CSF of adults. *J. Neurosci. Methods* 1994; 51:197-204.
55. Rosengren L.E., Lycke J., Andersen O. Glial fibrillary acidic protein in CSF of multiple sclerosis patients: relation to neurological deficit. *J. Neurol. Sci.* 1995; 133:61-65.
56. Rosengren L.E., Karlsson J.E., Karlsson J.O., Persson L.I., Wikkelsø C. Patients with amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases have increased levels of neurofilament protein in CSF. *J. Neurochem* 1996; 67:2013-2018.
57. Rosengren L.E., Karlsson J.E., Sjogren M., Blennow K., Wallin A. Neurofilament protein levels in CSF are increased in dementia. *Neurology* 1999; 23:1090-1093.
58. Rossi P., Colosimo C., Mora E., Tonali P., Albanese A. Acute challenge with apomorphine and levodopa in parkinsonism. *Eur. Neurol.* 2000; 43:95-101.
59. Schrag A., Kingsley D., Phatouris C., Mathias C.J., Daniel S.E., Quinn N.P. Clinical usefulness of magnetic resonance imaging in multiple system atrophy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1998; 65:65-71.
60. Singh et al., *Endocrinology* 94:883 (1974).
61. Smith et al., *Science* 260:1640-1643 (1998).
62. Smith and Waterman J. *Mol. Biol.*, 147, 195-197, 1981, *Advances in Applied Mathematics*, 2, 482-489, 1981.
63. Tannenbaum G.S. Evidence for auto regulation of growth hormone secretion via the central nervous system. *Endocrinology* 1980; 107:2117-2120.
64. Thorlacius-Ussing, *Neuroendocrinology* 43:233 (1987).
65. Thomer et al., *Recent Prog. Horm. Res.* 52:215-244 (1997).
66. Van der Ecken H., Adams R.D., van Bogaert L. S triopallidal-nigral degeneration. A hitherto undescribed lesion in paralysis agitans. *J. Neuropathol Exp. Neurol.* 1960; 19:159-161.
67. Wenning G.K., Quinn N., Magalhaes C., Mathias C., Daniel S.E. "Minimal change" Multiple System Atrophy. *Mov. Disord.* 1994; 9: 161-166.
68. Wenning G.K. Olivopontocerebellar atrophy. *Mov. Disord.* 1996; 11:157-162.
69. Wenning G.K., Tison R., Ben Shlomo Y., Daniel S.E., Quinn N.P. Multiple system atrophy: A Review of 203 Pathologically Proven Cases. *Mov. Disord.* 1997; 12:133-147.

